

トレハロース受容体並びにそれを用いるトレハロースの検出方法

技術分野

本発明は、哺乳動物におけるトレハロース受容体並びにトレハロース受容体を用いるトレハロース検出方法に関するものである。

背景技術

トレハロースは、澱粉原料からの生産技術が確立されたことにより、安価に製造可能となり、トレハロースを配合した食品や化粧品が市場に出回るようになった。近年、消費者保護の観点から、食品や化粧品などの配合成分のデータを表示することが求められるようになった。これをうけて、トレハロースを配合した食品や化粧品に表示されたトレハロース含量の正確各さを客観的に確認するためにも、食品や化粧品中のトレハロースを正確かつ簡便に検出する方法が必要である。従来提案されいるトレハロースの検出方法としては、「日本食品科学工学会誌」、第45巻、第6号、381－384頁、1998年に開示される検出方法、すなわち、食品などからトレハロースを含む糖類を抽出し、それをトリメチルシリル誘導体化した後、ガスクロマトグラフィーにより分離してトレハロースの含有量を測定するというものがある。この方法は、多くの食品に適用可能であり、ppm単位の精度で測定可能である。しかしながら、試料から糖質成分を抽出精製する工程、トリメチルシリル誘導体化が必要であり、操作が煩雑であることからより簡単な方法が求められている。

砂糖の45%の甘味度をトレハロースは、舌により体感できることから、舌の味蕾に存在する味覚細胞により感知されていると考えられるので、トレハロース受容体の存在が示唆され、この受容体を用いれ

ば、トレハロースの検出をより容易かつ簡便に行うことが可能になるものと思われるが、ヒトを含めた哺乳動物におけるトレハロース受容体は、その存在が未だ知られていない。すなわち、「サイエンス」、289巻、116-119頁、2000年で開示されるように、ショウジョウバエにおいては、トレハロース受容体がクローニングされているが、本発明者等が得た知見によれば、ショウジョウバエのトレハロース受容体のDNA配列を利用して、マウスの舌組織からmRNAを調製し、遺伝子クローニングを試みたところ、ショウジョウバエで発見されたトレハロース受容体蛋白質に相当する蛋白質はマウスなどの哺乳動物において発見することはできなかった。「ネイチャー」、413巻、13号、211-225頁、2001年には、スクロースの受容体をはじめとするさまざまな味覚に関する受容体が明らかにされ、例えば、「セル」、106巻、381-390頁、2001年で開示される甘味受容体としては、T1R2とT1R3のヘテロ2量体であるスクロース受容体や、「ネイチャー」、416巻、14号、199-202頁、2002年で開示されるT1R1とT1R3のヘテロ2量体であるL-アミノ酸受容体が開示されている。また、「セル」、106巻、381-390頁、2001年には、G蛋白質の α サブユニットである、 $\alpha 15$ 、 $\alpha 16$ 及び $\alpha 2$ が上記甘味受容体の反応に関与していることが記載されている。しかしながら、これらの文献はいずれもトレハロースの受容体について何らの教示を与えるものでない。

発明の開示

本発明は、上記した背景技術の下に為されたもので、哺乳動物におけるトレハロース受容体を解明するとともに、それを用いて、抽出精製工程や誘導体化を必要とせず、試料中のトレハロースを直接的にか

つ容易に検出する方法を提供することを課題とするものである。

本発明者等は、哺乳類におけるトレハロース受容体を解明すべく、研究を重ねた結果、意外にも、哺乳動物においては、スクロース受容体の一部とG蛋白質の α サブユニットとが組み合わさって、トレハロース受容体を形成していることを見出し、また、このトレハロース受容体を用いれば、トレハロースを特異的に、かつ、定量的に検出可能であることを確認し、本発明を完成するにいたった。

すなわち、本発明は、哺乳動物におけるトレハロース受容体を提供するとともに、トレハロース受容体を発現させた細胞及びそれを用いたトレハロース検出方法を提供することにより、上記課題を解決するものである。

図面の簡単な説明

図1は、本発明によるG蛋白質 α サブユニット $\alpha 15$ 及び $\alpha 16/Z$ 共発現ベクターの構造を示す。

図2は、本発明によるT1R3蛋白質発現ベクターの構造を示す。

符号の説明

E F 1 p r o m o t e r : 延長因子プロモーター

G $\alpha 15$: G蛋白質 α サブユニット $\alpha 15$

p o l y A t a i l : ポリA付加シグナル

G $\alpha 16/Z$: G蛋白質 α サブユニット $\alpha 16/Z$ キメラ蛋白質

発明の実施の形態

本発明のトレハロース受容体とは、G蛋白質 α サブユニットの一種である $\alpha 15$ （配列表における配列番号1）、 $\alpha 16$ （配列表におけ

る配列番号2)、 α Z (配列表における配列番号3) を共発現させた細胞、若しくは、 α 1 5 (配列表における配列番号1) とともに、モーディーら、モレキュラーファーマコロジー (M o l e c u l a r P h a r m a c o l o g y)、第57巻、13-23頁、2000年に開示される α 1 6 / Zキメラ蛋白質 (配列表における配列番号4) を共発現させた細胞において、甘味受容体の一つであるT 1 R 3 (配列表における配列番号5) を発現させることにより、細胞膜上に形成される新規な組み合わせの味覚受容体である。本発明で用いられるG蛋白質 α サブユニットやT 1 R 3蛋白質は、哺乳動物由来であれば、特にそれら由来の動物種は限定されず、また、各蛋白質がそれぞれ異なる動物種のものから構成されていてもよい。これらの蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードするDNA配列については、遺伝子データベース、例えば「G E N B A N K」などに開示されるものを利用することができる。とりわけ、T 1 R 3蛋白質及び α 1 5がマウス由来、 α 1 6及び α Zがヒト由来であるものが、感度に優れるので好ましい。さらに、トレハロースを感受することができる範囲内で、各蛋白質においてアミノ酸の欠失、置換、付加があってもよい。また、これらの蛋白質を、例えば、T 1 R 3に α 1 5、 α 1 6、 α 1 6 / Zキメラ蛋白質を連結して発現させたり、それぞれの蛋白質を同一のベクターで発現させることができる。なお、上記の α 1 6 / Zキメラ蛋白質 (配列表における配列番号4) は、受容体発現に必要な遺伝子数を減じる効果があり、本発明に有利に利用できる。

本発明で用いられるトレハロース受容体を発現させる細胞としては、種類、由来動物などを問わず、本発明のトレハロース受容体が細胞膜上に形成され、かつ、それがトレハロースと結合又は反応することによって、細胞がなんらかの反応を示す限り、どのような細胞を用

いてもよい。トレハロースに対する特異性を高めるために、味覚細胞などの味覚受容体を有する細胞を避け、味覚受容体を有しない細胞を用いるのが好ましい。とりわけ、ヒト胎児腎臓上皮細胞由来の293細胞株（理研ジーンバンク、RCB1637）は、味覚受容体を有しておらず、また、後述する細胞内カルシウムイオンの検出が比較的容易に行えるので、本発明において有利に用いられる。

本発明で用いられるトレハロース受容体を発現させる方法としては、まず、上記の受容体蛋白質をコードするDNA、つまり、例えば、配列番号1乃至5に開示されるアミノ酸配列をコードするDNAを入手する必要がある。DNAを入手する方法としては、DNAの全部又は一部を化学合成により合成する方法、動物のゲノムDNA、mRNA若しくはcDNAから、ハイブリダイゼーション法やPCR法により選別採取する方法などが挙げられ、それらを適宜組み合わせることで本発明に必要なDNAを得ることができる。

上記のDNAにコードされるトレハロース受容体蛋白質を細胞膜上に発現させるには、適宜の動物細胞発現用発現ベクターに組み込み、哺乳動物細胞に導入すればよい。発現ベクターとしては、通常、動物細胞に用いられる発現ベクターを適宜選択すればよく、適宜の薬剤耐性遺伝子、発現プロモーター領域、ポリアダニル化部位、ポリリンカー、制限酵素切断部位、エンハンサー領域などを配した発現ベクターを用いることができ、プラスミドベクター、ウイルスベクター、コスミドベクターなど、どのような種類のベクターをも用いることができる。また、発現形態が一過的な発現であっても、恒常的な発現であってもよく、目的に応じて適宜選択すればよい。また、各G蛋白質及び受容体蛋白質をコードするDNAをそれぞれ単一の発現ベクターに組み込んでも、単一の発現ベクター上に複数種のG蛋白質及び受容体

蛋白質をコードするDNAを組み込んで発現させてもよい。

本発明によるトレハロースの検出方法は、スクロース受容体の一部とG蛋白質 α サブユニットの一部との新規な組み合わせによるトレハロース受容体を膜表面に発現させた動物細胞に対して、トレハロースが含まれていると想定される試料を添加し、その中に含まれるトレハロースがトレハロース受容体と結合することによって引き起こされる生化学的な反応を測定することにより、試料中のトレハロースを検出するというものである。本発明に用いられる生化学的な反応としては、細胞内シグナル伝達系に関与する反応が挙げられ、それに関わる物質、例えば、サイクリックAMP、サイクリックGMP、サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ、プロテインキナーゼC、カルシウムイオンなどの量の増減を測定する方法が挙げられる。とりわけ、カルシウムイオンの流入を測定する方法が最も簡便かつ感度に優れる有力な手法であり、本発明において有利に実施できる。

細胞内におけるカルシウムイオンの測定方法としては、カルシウムイオンと結合することにより、蛍光を発する試薬、例えば、モレキュラープローブス社販売の商品名『Fluo-4, AM』などの細胞内におけるカルシウムイオン検出用試薬が挙げられ、反応させることによって発せられる蛍光を、市販のプレート式、キュベット式、フローサイトメトリー式の蛍光検出装置により測定する方法、蛍光顕微鏡などで肉眼的に観察する方法などが挙げられる。

本発明のトレハロースの検出方法によれば、様々な食品又は化粧品などを被検対象品として、それらに含有まれるトレハロースを特異的に測定することができる。被検対象品が固体、ペースト、ゲル又は親油性液体ならば、水性溶媒により被検対象品に含まれるトレハロースを溶解し、不溶物質を除去して試料とする。また、被検対象が親水性

液体ならば、そのまま、あるいは、いったん乾燥固化したものを水性溶媒で再溶解したものを用いることもできる。また、例えば、細胞毒性を有する物質、ミネラル、又は色素などの、トレハロースの検出に支障のある不純物質が試料中に混在する場合は、適宜の分離方法、例えば、活性炭吸着法、有機溶媒抽出法、遠心分離法、膜濾過法、ゲル濾過法、イオン交換クロマトグラフィー法、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー法、疎水性クロマトグラフィー法などの方法で、また、不純物質を適宜の酸、アルカリ、還元剤、酸化剤などの薬剤、分解酵素などで処理し、試料からトレハロース以外の不要な物質を除去することもできる。また、必要ならば、トレハロース分解酵素であるトレハラーゼを処理した試料を陰性対象として用いれば、より正確なトレハロース含量が測定可能であり、特にバックグラウンドが高い場合は有利となる。本発明によるトレハロースの検出方法における検出感度は、試料溶液中におけるトレハロース濃度で5 mM以上乃至500 mMの範囲で測定可能である。したがって、試料溶液中のトレハロース濃度がこの範囲内でない場合は、試料を段階的に濃縮又は希釈することによって、上記測定範囲内になるように調節すればよい。

本発明のトレハロースの検出方法は、上記の食品や化粧品に含まれるトレハロースの含量を測定することに用いられるほか、例えば、トレハロースなどの糖質を誘導体化することによる甘味度の増減効果を検討するといった、新規甘味料の検索にも利用できる。

以下、実施例により、本発明を詳細に説明する。

実施例 1 G 蛋白質 α サブユニット蛋白質発現用ベクターの構築

実施例 1 - 1 G 蛋白質 α サブユニット蛋白質 α 15 をコードする DNA の調製

マウス骨髓性白血病由来細胞株 W E H 1 - 3 (A T C C N o . T I B - 6 8) から、常法にしたがい、m R N A を含む R N A を抽出精製し、この R N A 1 μ g から、1 2 . 5 p m o l のランダムヘキサマーをプライマーとして、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプト I I R T』で、4 2 °C で 5 0 分間反応することにより、第 1 ストランド c D N A を合成した。引き続き、リボヌクレアーゼ I により混在する R N A を酵素分解し、P C R の鋳型用の c D N A を得た。また、G 蛋白質 α サブユニット α 1 5 D N A (配列表の配列番号 6) の 5 ' 末端の D N A 配列に制限酵素 H i n d I I I 切断部位を含む塩基配列を付加した P C R 用センスプライマー (配列表の配列番号 7) 、3 ' 末端の D N A 配列に制限酵素 N o t I 切断部位を含む塩基配列を付加した P C R 用アンチセンスプライマーを作製した (配列表における配列番号 8) 。上記 c D N A 及び P C R 用プライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性 D N A ポリメラーゼである商品名『L A T a q D N A ポリメラーゼ』により、常法にしたがい P C R を行い、G 蛋白質 α 1 5 をコードする D N A を得た。

実施例 1 - 2 G 蛋白質 α 1 6 / Z キメラ蛋白質をコードする D N A の調製

ヒト骨髓性白血病由来細胞株 H L - 6 0 (A T C C N o . C C L - 2 4 0) 又は U 9 3 7 (A T C C N o . C R L - 1 5 9 3 . 2) から、常法にしたがい、m R N A を含む R N A を抽出精製し、この R N A 1 μ g から、1 2 . 5 p m o l のランダムヘキサマーをプライマーとして、常法にしたがい、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプト I I R T』で、4 2 °C で 5 0 分間反応することにより、第 1 ストランド c D N A を合成した。引き続き、常法

にしたがい、リボヌクレアーゼ I により RNA を酵素分解し、PCR の鋳型用の cDNA を得た。また、G 蛋白質 $\alpha 16$ DNA (配列表の配列番号 9) 及び G 蛋白質 αZ DNA (配列表の配列番号 10) を得るべく、 $\alpha 16$ の開始コドン付近の DNA 配列、すなわち塩基番号 202 から 221 までの配列の 5' 側に、制限酵素 Hind III 切断部位を付加した PCR 用センスプライマー (配列表の配列番号 11)、 $\alpha 16$ の塩基番号 1196 から 1211 までの相補配列の 5' 側に αZ の塩基番号 946 から 960 までの相補配列を付加したアンチセンスプライマー (配列表の配列番号 12) を作製した。一方、 αZ DNA を得るべく、配列表における配列番号 10 の塩基番号 946 から 960 までの配列の 5' 側に $\alpha 16$ の塩基番号 1195 から 1211 までの配列を付加した PCR 用センスプライマー (配列表の配列番号 13)、 αZ の塩基番号 1068 から 1086 までの相補配列の 5' 側に制限酵素 Not I 切断部位を付加したアンチセンスプライマー (配列表の配列番号 14) を作製した。これら cDNA 及び PCR プライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性 DNA ポリメラーゼである商品名『LA Taq DNA ポリメラーゼ』により、常法にしたがいそれぞれ PCR を行い、G 蛋白質 $\alpha 16$ 及び G 蛋白質 αZ をコードする DNA を得た。これらを混ぜ合わせ、熱変成した後、オーバーラップした部分をアニーリングさせた後、さらに PCR を行い、約 1200 bp の $\alpha 16 / Z$ キメラ蛋白質をコードする DNA を得た。

実施例 1-3 G 蛋白質 $\alpha 15$ 及び $\alpha 16 / Z$ キメラ蛋白質を共発現するベクターの構築

発現ベクターとして、ピューロマイシン耐性遺伝子、EF-1 α (延長因子) プロモーターなどを有するエッジ・バイオシステムズ社販売

のプラスミドベクター p E A K 1 2 を採用し、その制限酵素 S p e I 切断部位に制限酵素 E c o R V 切断部位を付加した発現ベクター p E A K S 1、及び p E A K S 1 の制限酵素切断部位 B a m H I にさらに E c o R V 制限酵素切断部位を付加させた発現ベクター p E A K S 2 を常法にしたがい調製した。まず、実施例 1 - 1 で得た G 蛋白質 α 1 5 蛋白質をコードする D N A 又は実施例 1 - 2 で得た G 蛋白質 α 1 6 / Z キメラ蛋白質をコードする D N A を、それぞれ制限酵素 H i n d I I I 及び N o t I で消化し、p E A K S 1 又は p E A K S 2 の H i n d I I I 及び N o t I の位置に常法にしたがってライゲーションし、G 蛋白質 α 1 5 蛋白質をコードする D N A が挿入された p E A K S 1、及び、G 蛋白質 α 1 6 / Z 蛋白質をコードする D N A が挿入された p E A K S 2 を得た。次に、G 蛋白質 α 1 6 / Z 蛋白質をコードする D N A が挿入された p E A K S 2 を制限酵素 E c o R V で消化し、プロモーター領域とともに G 蛋白質 α 1 6 / Z キメラ蛋白質をコードする D N A 配列を含む D N A 断片を調製し、それを G 蛋白質 α 1 5 蛋白質をコードする D N A が挿入された p E A K S 1 の E c o R V 制限酵素切断部位に、常法にしたがってライゲーションし、G α 1 5 及び G α 1 6 / Z キメラ蛋白質を共発現するベクター『p E A K / E F 2 - G α (1 5 + 1 6 / Z)』を得た (図 1 参照)。なお、使用した P C R プライマーの一覧表を表 1 に示す。

表 1

G蛋白質 質	GENB ANK アクセ ス番号	由来	PCR用プライマー 5' 3'	配列表 における 配列 番号	備 考
$\alpha 15$	M806 32	マウ ス	CGCAAGCTT - TCTGTGAAGCGCCCCACC ATG	配列番 号7	HindIII - $\alpha 15$ (26-45)
			GCATTACGA TCGGCCGC - GCGTCACAGC AGGTTGATC	配列番 号8	NotI - $\alpha 15$ (1152-1170)
$\alpha 16$	M639 04	ヒト	CGCAAGCTT - GACTGAGGCCACCGCACCAT	配列番 号11	HindIII - $\alpha 16$ (202-221)
			CTCCTTGTTTCGGTT - GCTGCCCTCGGGGC	配列番 号12	αZ (946-960) - $\alpha 16$ (1196-1211)
αZ	NM 0020 73	ヒト	GGCCCCGAGGGCAGC - AACCGAAACAAGGAG	配列番 号13	$\alpha 16$ (1195-1211) - αZ (946-960)
			GCATTACGATCGGCGCCGC - AGCTCCTCAGCAAAGGCCA	配列番 号14	NotI - αZ (1068-1086)

実施例 2 マウス甘味受容体蛋白質発現用ベクターの構築

実施例 2 - 1 T1R1、T1R2 及び T1R3 DNA の調製

野生型 C57BL/6 マウス 16 匹より舌組織約 2.4 g を採取した。常法にしたがって、マウス舌由来の mRNA を含む RNA を調製した。この 1 μ g から、12.5 pmol のランダムヘキサマーをプライマーとして、常法にしたがい、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプト II RT』で、42℃で50分間反応することにより、第1ストランド cDNA を合成した。引き続き、常法にしたがい、リボヌクレアーゼ I により RNA を酵素分解し、PCR の鋳型用の cDNA を得た。次に、マウス由来の甘味受容体 T1R1 (配列表における配列番号 16)、T1R2 (配列表における配

列番号 17) 及び T1R3 (配列表における配列番号 18) の DNA を得るために、GENBANK データベースに登録されている DNA 配列をもとに、開始コドン付近の塩基配列に制限酵素 EcoRI 切断部位を付加したセンスプライマー、及び、終始コドン付近の相補塩基配列に制限酵素 NotI 切断部位を付加したアンチセンスプライマーを作製した。上記 cDNA 及び PCR 用プライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性 DNA ポリメラーゼである商品名『LA Taq DNA ポリメラーゼ』により、常法にしたがい PCR を行い、5' 末端に制限酵素 EcoRI 切断部位を、3' 末端に制限酵素 NotI 切断部位を有する、T1R1、T1R2 及び T1R3 をコードする DNA を得た。

実施例 2-2 甘味受容体発現ベクターの構築

発現ベクターは、実施例 1-3 で用いた発現ベクター pEAKS1 において、薬剤耐性遺伝子であるピューロマイシン耐性遺伝子をネオマイシン耐性遺伝子 (インビトロジェン社販売の発現ベクター pREP9 由来) に組み替えた発現ベクター「pEAKSN1」を常法により作製した。単独発現の場合には、実施例 2-1 で得た DNA をそれぞれ、制限酵素 EcoRI 及び NotI で消化し、pEAKSN1 の EcoRI 及び NotI の位置に常法にしたがってライゲーションし、甘味受容体 T1R1、T1R2 又は T1R3 用の発現ベクターを得た (図 2 参照)。共発現の場合には、pEAKS2 の EcoRI 及び NotI の位置にいずれかの甘味受容体を導入した発現ベクターを、制限酵素 EcoRV で消化して、プロモーター領域及び甘味受容体蛋白質をコードする DNA を含む DNA 断片を調製し、これを甘味受容体蛋白質をコードする DNA を含む pEAKSN1 の EcoR

V 制限酵素切断部位に、常法にしたがってライゲーションし、T1R1 及び T1R2 共発現ベクター、T1R1 及び T1R3 共発現ベクター、及び T1R2 及び T1R3 共発現ベクターを得た。なお、使用した PCR 用プライマーの一覧表を表 2 に示す。

表 2

甘味受容体	GENBANK アクセス番号	由来	PCR用プライマー		配列表 における配列 番号	備 考
			5'	3'		
T1R1	AY03 2622	マウス	GGAATTC－ ATGCTTTTCTGGGCAGCTCACC		配列番号19	EcoRI－ T1R1(1-22)
			GCATTACGATGCGGCCGC－ TCAGGTAGTGCCGCAGCGCC		配列番号20	NotI－ T1R1(2510-2529)
T1R2	AY03 2623	マウス	GGAATTC－ ATGGGACCCCAGGCGAGGAC		配列番号21	EcoRI－ T1R2(1-20)
			GCATTACGATGCGGCCGC－ CTAGCTCTTCTCATCGTGTAG		配列番号22	NotI－ T1R2(2511-2532)
T1R3	AY03 2621	マウス	GGAATTC－ ATGCCAGCTTTGGCTATCATGG		配列番号23	EcoRI－ T1R3(1-22)
			GCATTACGATGCGGCCGC－ TCATTCATTGTGTTCTGAGCTG		配列番号24	NotI－ T1R3(2555-2577)

実施例 3 各種甘味受容体発現細胞の調製

実施例 1－3 で得た G 蛋白質 $\alpha 15$ 、 $\alpha 16$ / Z キメラ蛋白質（以下、「G 蛋白質 α サブユニット」という）を共発現するベクターを、ヒト胎児腎臓上皮由来 293 細胞株（理研ジーンバンク、RCB No. 1637）に、常法のリポフェクション法により遺伝子導入した。導入細胞は、ピューロマイシン（エッジ・バイオシステムズ社販売、

商品名『ピューロマイシン』) 1 mg / l を含有する 10 % ウシ胎児血清含有のダルベッコ改変最小培地 (D-MEM) で細胞濃度 2×10^6 個 / ml で懸濁したのち、プラスチックシャーレで培養した。10 ~ 14 日後、ピューロマイシン耐性の細胞コロニーを回収し、mRNA レベルでの G 蛋白質 α サブユニットの発現を確認して、G 蛋白質 α サブユニット発現細胞株を得た。この細胞に、実施例 2-2 で調製した甘味受容体である T1R1、T1R2 又は T1R3 を単独発現用の発現ベクター、T1R1 及び T1R2、T1R1 及び T1R3、又は、T1R2 及び T1R3 を共発現用の発現ベクターを常法のリポフェクション法で遺伝子導入した後、『ピューロマイシン』 1 mg / l 及び『ジェネチシン』 500 mg / l を含有する 10 % ウシ胎児血清を有する D-MEM に懸濁し、細胞培養用プラスチックシャーレで培養した後、10 ~ 14 日後、両薬剤耐性の細胞コロニーを回収し、導入した遺伝子が想定したとおりに発現していることを常法の RT-PCR 法により、mRNA レベルでの発現を確認し、G 蛋白質と甘味受容体が発現している細胞を得た。なお、対照として、G 蛋白質又は甘味受容体遺伝子を含まない発現ベクターのみを導入したものを用意した。

実施例 4 甘味受容体でのトレハロース及びスクロース反応性テスト

常法の細胞内カルシウムイオン測定方法にしたがって測定した。すなわち、実施例 3 で調製した G 蛋白質及び甘味受容体を発現している 293 細胞をプラスチックシャーレでコンフルエント状態まで培養した後、0.05 % トリプシン、0.53 mM EDTA 溶液により剥離させ、10 % ウシ胎児血清を含有する D-MEM 培地に細胞濃度

1 × 1 0⁶ 個 / m l に懸濁し、細胞内カルシウム検出試薬であるモレキュラープローブス社販売の商品名『F l u o - 4 . A M』を最終濃度 2 μ M となるように添加し、3 7 ° C で 3 0 ~ 9 0 分間培養することにより、カルシウム検出試薬『F l u o - 4 . A M』を細胞内に取り込ませた。これを、1 0 m M H E P E S (p H 7 . 4)、1 3 0 m M 塩化ナトリウム、5 . 4 m M 塩化カリウム、2 m M 塩化カルシウム、1 m M 塩化マグネシウム、5 . 5 m M D - グルコース、0 . 1 % ウシ血清アルブミン、1 m M ピルビン酸ナトリウムを含有するカルシウムイオン測定用緩衝液で洗浄し、細胞外の試薬を除去し、同緩衝液で細胞濃度 2 . 6 7 × 1 0⁷ 個 / m l に懸濁し、1 0 0 μ m メッシュで濾過し、2 5 ° C で 3 0 分静置した後、ガラスキューベット（日立製作所（株）販売）に細胞懸濁液を 2 m l 入れ、蛍光分光強度計（日立製作所（株）製造、商品名『H I T A C H I 6 5 0 - 4 0』）にセットした。

試料の糖質として、トレハロース（片山化学工業（株）販売）、対照として、スクロース（和光純薬工業（株）販売）を、上記のカルシウムイオン測定用緩衝液で 1 M に溶解した。これを上記の細胞懸濁液の入ったガラスキューベットに 0 . 6 7 m l 添加し、攪拌した後、励起波長 4 9 4 n m、蛍光波長 5 1 6 n m での蛍光強度を測定し、反応性の有無を調べた。結果を表 3 に示す。

表 3

甘味受容体			G蛋白質 α サブユ ニット	カルシウムイオンの 流入	
T1R1	T1R2	T1R3		トレハ ロース	スクロー ス(対照)
○	—	—	○	無	無
—	○	—	○	無	無
—	—	○	○	有	無
○	○	—	○	無	無
○	—	○	○	有	無
—	○	○	○	有	有
—	—	—	○	無	無
—	○	○	—	無	無

表 3 に示すとおり、G 蛋白質 α サブユニット及び T 1 R 3 発現細胞において、トレハロースに対する反応性が検出された。一方、対照のスクロースは、G 蛋白質 α サブユニット、T 1 R 2 及び T 1 R 3 発現細胞において、反応性が検出された。この結果は、トレハロース受容体においては、T 1 R 1 及び T 1 R 2 は不要であり、G 蛋白質 α サブユニットとともに T 1 R 3 のみが必要であること、トレハロースとスクロースは異なる受容体により認識されていることが判明した。

実施例 5 トレハロース受容体における他の甘味成分の検出

実施例 4 において、G 蛋白質 α サブユニットと甘味受容体 T 1 R 3 のみを発現させた細胞における、各種甘味を有する物質に対する反応性を測定した。すなわち、表 4 に示す各種甘味物質について、それぞ

れカルシウムイオンの流入の測定を、実施例 4 と同様にして行った。
結果を表 4 に示す。

表 4

甘味料	カルシウム の流入
トレハロース	有
スクロース	無
マンノース	無
ガラクトース	無
フルクトース	無
エリスリトール	無
マルチトール	無
Ｌ－グリシン	無
アラニン	無
スクラロース	無
アスパルテーム	無

表 4 に示すとおり、トレハロース受容体は、トレハロース以外の糖質には反応性がなく、トレハロースを特異的に認識することが判明した。したがって、各種甘味料が混在する状況下においても、トレハロースを特異的に検出することが可能である。

実施例 6 トレハロース受容体におけるトレハロースの定量

市販の 96 穴マイクロプレートに、実施例 4 で調製した細胞懸濁液 0.1 ml ずつを播種し、これに、実施例 4 のカルシウムイオン測定用緩衝液により各種濃度に希釈したトレハロース溶液、すなわち、1 mM、2 mM、5 mM、10 mM、20 mM、50 mM、100 mM、200 mM、500 mM、1,000 mM、又は 2,000 mM を 0.

1 m l ずつ添加し、濃度マルチプレート用自動蛍光測定装置（大日本製薬（株）販売、商品名『フルオロスキャンアセント W / D F 』）により、励起波長 4 9 4 n m、蛍光波長 5 1 6 n m で測定し、蛍光強度の積分値を算出した。なお、陰性対照はトレハロース無添加の試料を用いた。結果を表 5 に示す。

表 5

トレハロース 濃度(mM)	蛍光強度(積 分値)
0	0
1	0.2
2	0.5
5	10
10	19
20	29
50	45
100	82
200	159
500	421
1000	670
2000	720

表 5 に示すように、トレハロース濃度 5 m M 以上から、トレハロースの検出が可能となり、5 0 0 m M までは直線性を有していた。したがって、この結果は、トレハロース濃度 5 m M 乃至 5 0 0 m M の範囲内で定量的にトレハロース濃度が測定できることを示している。

本発明によれば、生体内又は生体外に存在するトレハロースの検出、定量を極めて正確かつ簡便に実施することができる。即ち、トレハロ

ースに特異的な受容体を利用しているので、他の糖質、例えばスクロースが混入している試料であってもトレハロースを極めて正確かつ簡便に検出し、定量することができる。

特許請求の範囲

請求項 1 配列表における配列番号 1、2、3 及び 5 に示すアミノ酸配列、又はそれらのアミノ酸配列において、その一部が欠失、置換、付加してなるアミノ酸配列を有する蛋白質、又は、配列表における配列番号 1、4 及び 5 に示すアミノ酸配列、又はそれらのアミノ酸配列において、その一部が欠失、置換、付加してなるアミノ酸配列を有する蛋白質を含んでなる哺乳動物のトレハロース受容体。

請求項 2 請求項 1 に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞。

請求項 3 配列表における配列番号 1、2、3 及び 5 に示すアミノ酸配列、又はそれらのアミノ酸配列において、その一部が欠失、置換、付加してなるアミノ酸配列を有する蛋白質をコードする DNA、又は、配列表における配列番号 1、4 及び 5 に示すアミノ酸配列、又はそれらのアミノ酸配列において、その一部が欠失、置換、付加してなるアミノ酸配列を有する蛋白質をコードする DNA を組み込んだ発現ベクターを動物細胞に導入する工程を含む、トレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞の製造方法。

請求項 4 請求項 1 に記載のトレハロース受容体又は請求項 2 に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞を用いることを特徴とするトレハロースの検出方法。

請求項 5 トレハロース受容体にトレハロースが結合することによって起こる生化学的反応を検出することを特徴とする請求項 4 に記載のトレハロースの検出方法。

請求項 6 生化学的反応の検出が、カルシウムイオンの流入を測定することによって行われる請求項 5 に記載のトレハロースの検出方法。

請求項 7 請求項 2 に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞と、カルシウムイオンの検出試薬を含んでなるトレハロース検出キット。

要 約 書

配列表における配列番号 1、2、3 及び 5 に示すアミノ酸配列を有する蛋白質、又は、配列表における配列番号 1、4 及び 5 に示すアミノ酸配列を有する蛋白質からなる哺乳動物のトレハロース受容体、又はそれを発現させた動物細胞によるトレハロース検出方法が開示されている。

配列表 (SEQUENCE LISTING)

<110> Kabushiki Kaisha Hayashibara Seibutsu Kagaku Kenkyujo
 <120> Trehalose receptor and method for detecting trehalose with the same
 <160> 24

<210> 1
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Homosapiens

<300>
 <308> GENBANK M80632

<400> 1
 Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Gly Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
 1 5 10 15
 Glu Glu Lys Thr Ala Ala Arg Ile Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
 20 25 30
 Leu Glu Gln Lys Lys Gln Glu Arg Glu Glu Leu Lys Leu Leu Leu Leu
 35 40 45
 Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
 50 55 60
 Ile His Gly Val Gly Tyr Ser Glu Glu Asp Arg Arg Ala Phe Arg Leu
 65 70 75 80
 Leu Ile Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Gln Ala Met Ile Asp Ala
 85 90 95
 Met Asp Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Asp Ser Lys Gln His
 100 105 110
 Ala Ser Leu Val Met Thr Gln Asp Pro Tyr Lys Val Ser Thr Phe Glu
 115 120 125
 Lys Pro Tyr Ala Val Ala Met Gln Tyr Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
 130 135 140
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Ser Glu Asp Ser Tyr Ile
 165 170 175
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
 180 185 190
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Lys Lys Thr Lys Leu Arg Ile Val Asp
 195 200 205
 Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu Arg Arg Lys Trp Ile His Cys Phe Glu
 210 215 220
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln

225 230 235 240
 Cys Leu Glu Glu Asn Asp Gln Glu Asn Arg Met Glu Glu Ser Leu Ala
 245 250 255
 Leu Phe Ser Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val
 260 265 270
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Asp Lys Ile His Thr
 275 280 285
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Arg Arg Asp
 290 295 300
 Ala Glu Ala Ala Lys Ser Phe Ile Leu Asp Met Tyr Ala Arg Val Tyr
 305 310 315 320
 Ala Ser Cys Ala Glu Pro Gln Asp Gly Gly Arg Lys Gly Ser Arg Ala
 325 330 335
 Arg Arg Phe Phe Ala His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Ser Val
 340 345 350
 Arg Ser Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu
 355 360 365
 Asp Glu Ile Asn Leu Leu
 370

<210> 2
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Homosapiens

<300>
 <308> GENBANK M63904

<400> 2
 Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
 1 5 10 15
 Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
 20 25 30
 Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu
 35 40 45
 Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
 50 55 60
 Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro
 65 70 75 80
 Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala
 85 90 95
 Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His
 100 105 110
 Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu

115 120 125
 Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
 130 135 140
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val
 165 170 175
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
 180 185 190
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp
 195 200 205
 Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu
 210 215 220
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln
 225 230 235 240
 Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala
 245 250 255
 Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val
 260 265 270
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr
 275 280 285
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp
 290 295 300
 Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr
 305 310 315 320
 Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Lys Lys Gly Ala Arg Ser
 325 330 335
 Arg Arg Leu Phe Ser His Tyr Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Asn Ile
 340 345 350
 Arg Lys Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu
 355 360 365
 Asp Glu Ile Asn Leu Leu
 370

<210> 3
 <211> 355
 <212> PRT
 <213> Homosapiens

<300>
 <308> GENBANK NM_002073

<400> 3
 Met Gly Cys Arg Gln Ser Ser Glu Glu Lys Glu Ala Ala Arg Arg Ser

1	5	10	15
Arg Arg Ile Asp Arg His Leu Arg Ser Glu Ser Gln Arg Gln Arg Arg			
20	25	30	
Glu Ile Lys Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Gly Lys Ser Thr			
35	40	45	
Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Ser Gly Gly Phe Asn Leu Glu			
50	55	60	
Ala Cys Lys Glu Tyr Lys Pro Leu Ile Ile Tyr Asn Ala Ile Asp Ser			
65	70	75	80
Leu Thr Arg Ile Ile Arg Ala Leu Ala Ala Leu Arg Ile Asp Phe His			
85	90	95	
Asn Pro Asp Arg Ala Tyr Asp Ala Val Gln Leu Phe Ala Leu Thr Gly			
100	105	110	
Pro Ala Glu Ser Lys Gly Glu Ile Thr Pro Glu Leu Leu Gly Val Met			
115	120	125	
Arg Arg Leu Trp Ala Asp Pro Gly Ala Gln Ala Cys Phe Ser Arg Ser			
130	135	140	
Ser Glu Tyr His Leu Glu Asp Asn Ala Ala Tyr Tyr Leu Asn Asp Leu			
145	150	155	160
Glu Arg Ile Ala Ala Ala Asp Tyr Ile Pro Thr Val Glu Asp Ile Leu			
165	170	175	
Arg Ser Arg Asp Met Thr Thr Gly Ile Val Glu Asn Lys Phe Thr Phe			
180	185	190	
Lys Glu Leu Thr Phe Lys Met Val Asp Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu			
195	200	205	
Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Gly Val Thr Ala Ile Ile Phe			
210	215	220	
Cys Val Glu Leu Ser Gly Tyr Asp Leu Lys Leu Tyr Glu Asp Asn Gln			
225	230	235	240
Thr Ser Arg Met Ala Glu Ser Leu Arg Leu Phe Asp Ser Ile Cys Asn			
245	250	255	
Asn Asn Trp Phe Ile Asn Thr Ser Leu Ile Leu Phe Leu Asn Lys Lys			
260	265	270	
Asp Leu Leu Ala Glu Lys Ile Arg Arg Ile Pro Leu Thr Ile Cys Phe			
275	280	285	
Pro Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Thr Tyr Glu Glu Ala Ala Val Tyr Ile			
290	295	300	
Gln Arg Gln Phe Glu Asp Leu Asn Arg Asn Lys Glu Thr Lys Glu Ile			
305	310	315	320
Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile Gln Phe Val			
325	330	335	
Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu Lys Tyr Ile			
340	345	350	
Gly Leu Cys			

<210> 4
 <211> 374
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<300>

<301>SEJAL M. MODY, MAURICE K. C. HO, SUSHMA A. JOSHI, and YUNG H. WONG
 <302>Incorporation of GalphaZ-Specific Sequence at the Carboxyl Terminus Increases the
 Promiscuity of Galpha16 toward Gi-Coupled Receptors
 <303>The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics
 <304>57
 <306>13-23
 <307>2000

<400> 4

```

Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
 1           5           10           15
Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
      20           25           30
Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu
      35           40           45
Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
 50           55           60
Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro
 65           70           75           80
Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala
      85           90           95
Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His
      100          105          110
Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu
      115          120          125
Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
      130          135          140
Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
145           150           155           160
Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val
      165          170          175
Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
      180          185          190
Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp
      195          200          205
Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu

```

210	215	220
Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln		
225	230	235 240
Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala		
	245	250 255
Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val		
	260	265 270
Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr		
	275	280 285
Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp		
	290	295 300
Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr		
305	310	315 320
Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Asn Arg Asn Lys Glu Thr		
	325	330 335
Lys Glu Ile Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile		
	340	345 350
Gln Phe Val Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu		
	355	360 365
Lys Tyr Ile Gly Leu Cys		
370		

<210> 5
 <211> 858
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 5
Met Pro Ala Leu Ala Ile Met Gly Leu Ser Leu Ala Ala Phe Leu Glu
1 5 10 15
Leu Gly Met Gly Ala Ser Leu Cys Leu Ser Gln Gln Phe Lys Ala Gln
20 25 30
Gly Asp Tyr Ile Leu Gly Gly Leu Phe Pro Leu Gly Ser Thr Glu Glu
35 40 45
Ala Thr Leu Asn Gln Arg Thr Gln Pro Asn Ser Ile Pro Cys Asn Arg
50 55 60
Phe Ser Pro Leu Gly Leu Phe Leu Ala Met Ala Met Lys Met Ala Val
65 70 75 80
Glu Glu Ile Asn Asn Gly Ser Ala Leu Leu Pro Gly Leu Arg Leu Gly
85 90 95
Tyr Asp Leu Phe Asp Thr Cys Ser Glu Pro Val Val Thr Met Lys Ser
100 105 110
Ser Leu Met Phe Leu Ala Lys Val Gly Ser Gln Ser Ile Ala Ala Tyr
115 120 125

Cys	Asn	Tyr	Thr	Gln	Tyr	Gln	Pro	Arg	Val	Leu	Ala	Val	Ile	Gly	Pro
130						135					140				
His	Ser	Ser	Glu	Leu	Ala	Leu	Ile	Thr	Gly	Lys	Phe	Phe	Ser	Phe	Phe
145				150						155					160
Leu	Met	Pro	Gln	Val	Ser	Tyr	Ser	Ala	Ser	Met	Asp	Arg	Leu	Ser	Asp
			165						170					175	
Arg	Glu	Thr	Phe	Pro	Ser	Phe	Phe	Arg	Thr	Val	Pro	Ser	Asp	Arg	Val
			180					185					190		
Gln	Leu	Gln	Ala	Val	Val	Thr	Leu	Leu	Gln	Asn	Phe	Ser	Trp	Asn	Trp
	195						200					205			
Val	Ala	Ala	Leu	Gly	Ser	Asp	Asp	Asp	Tyr	Gly	Arg	Glu	Gly	Leu	Ser
	210					215					220				
Ile	Phe	Ser	Ser	Leu	Ala	Asn	Ala	Arg	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	His	Glu
225				230						235					240
Gly	Leu	Val	Pro	Gln	His	Asp	Thr	Ser	Gly	Gln	Gln	Leu	Gly	Lys	Val
				245					250					255	
Leu	Asp	Val	Leu	Arg	Gln	Val	Asn	Gln	Ser	Lys	Val	Gln	Val	Val	Val
		260						265					270		
Leu	Phe	Ala	Ser	Ala	Arg	Ala	Val	Tyr	Ser	Leu	Phe	Ser	Tyr	Ser	Ile
	275						280					285			
His	His	Gly	Leu	Ser	Pro	Lys	Val	Trp	Val	Ala	Ser	Glu	Ser	Trp	Leu
	290					295					300				
Thr	Ser	Asp	Leu	Val	Met	Thr	Leu	Pro	Asn	Ile	Ala	Arg	Val	Gly	Thr
305				310						315					320
Val	Leu	Gly	Phe	Leu	Gln	Arg	Gly	Ala	Leu	Leu	Pro	Glu	Phe	Ser	His
			325					330						335	
Tyr	Val	Glu	Thr	His	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Asp	Pro	Ala	Phe	Cys	Ala
		340						345					350		
Ser	Leu	Asn	Ala	Glu	Leu	Asp	Leu	Glu	Glu	His	Val	Met	Gly	Gln	Arg
		355					360						365		
Cys	Pro	Arg	Cys	Asp	Asp	Ile	Met	Leu	Gln	Asn	Leu	Ser	Ser	Gly	Leu
	370					375					380				
Leu	Gln	Asn	Leu	Ser	Ala	Gly	Gln	Leu	His	His	Gln	Ile	Phe	Ala	Thr
385				390						395					400
Tyr	Ala	Ala	Val	Tyr	Ser	Val	Ala	Gln	Ala	Leu	His	Asn	Thr	Leu	Gln
			405					410						415	
Cys	Asn	Val	Ser	His	Cys	His	Val	Ser	Glu	His	Val	Leu	Pro	Trp	Gln
		420						425					430		
Leu	Leu	Glu	Asn	Met	Tyr	Asn	Met	Ser	Phe	His	Ala	Arg	Asp	Leu	Thr
	435						440					445			
Leu	Gln	Phe	Asp	Ala	Glu	Gly	Asn	Val	Asp	Met	Glu	Tyr	Asp	Leu	Lys
	450					455				460					
Met	Trp	Val	Trp	Gln	Ser	Pro	Thr	Pro	Val	Leu	His	Thr	Val	Gly	Thr
465				470						475					480

Phe	Asn	Gly	Thr	Leu	Gln	Leu	Gln	Gln	Ser	Lys	Met	Tyr	Trp	Pro	Gly		
				485					490					495			
Asn	Gln	Val	Pro	Val	Ser	Gln	Cys	Ser	Arg	Gln	Cys	Lys	Asp	Gly	Gln		
			500					505					510				
Val	Arg	Arg	Val	Lys	Gly	Phe	His	Ser	Cys	Cys	Tyr	Asp	Cys	Val	Asp		
			515				520					525					
Cys	Lys	Ala	Gly	Ser	Tyr	Arg	Lys	His	Pro	Asp	Asp	Phe	Thr	Cys	Thr		
	530					535				540							
Pro	Cys	Asn	Gln	Asp	Gln	Trp	Ser	Pro	Glu	Lys	Ser	Thr	Ala	Cys	Leu		
545					550					555					560		
Pro	Arg	Arg	Pro	Lys	Phe	Leu	Ala	Trp	Gly	Glu	Pro	Val	Val	Leu	Ser		
				565					570					575			
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Cys	Leu	Val	Leu	Gly	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Leu		
			580					585					590				
Gly	Leu	Ser	Val	His	His	Trp	Asp	Ser	Pro	Leu	Val	Gln	Ala	Ser	Gly		
	595					600						605					
Gly	Ser	Gln	Phe	Cys	Phe	Gly	Leu	Ile	Cys	Leu	Gly	Leu	Phe	Cys	Leu		
	610					615					620						
Ser	Val	Leu	Leu	Phe	Pro	Gly	Arg	Pro	Ser	Ser	Ala	Ser	Cys	Leu	Ala		
625					630					635					640		
Gln	Gln	Pro	Met	Ala	His	Leu	Pro	Leu	Thr	Gly	Cys	Leu	Ser	Thr	Leu		
				645					650					655			
Phe	Leu	Gln	Ala	Ala	Glu	Thr	Phe	Val	Glu	Ser	Glu	Leu	Pro	Leu	Ser		
			660					665					670				
Trp	Ala	Asn	Trp	Leu	Cys	Ser	Tyr	Leu	Arg	Gly	Leu	Trp	Ala	Trp	Leu		
	675						680					685					
Val	Val	Leu	Leu	Ala	Thr	Phe	Val	Glu	Ala	Ala	Leu	Cys	Ala	Trp	Tyr		
	690					695					700						
Leu	Asn	Ala	Phe	Pro	Pro	Glu	Val	Val	Thr	Asp	Trp	Ser	Val	Leu	Pro		
705					710					715				720			
Thr	Glu	Val	Leu	Glu	His	Cys	His	Val	Arg	Ser	Trp	Val	Ser	Leu	Gly		
				725					730				735				
Leu	Val	His	Ile	Thr	Asn	Ala	Met	Leu	Ala	Phe	Leu	Cys	Phe	Leu	Gly		
			740					745					750				
Thr	Phe	Leu	Val	Gln	Ser	Gln	Pro	Gly	Arg	Tyr	Asn	Arg	Ala	Arg	Gly		
			755				760					765					
Leu	Thr	Phe	Ala	Met	Leu	Ala	Tyr	Phe	Ile	Thr	Trp	Val	Ser	Phe	Val		
	770					775					780						
Pro	Leu	Leu	Ala	Asn	Val	Gln	Val	Ala	Tyr	Gln	Pro	Ala	Val	Gln	Met		
785					790					795				800			
Gly	Ala	Ile	Leu	Val	Cys	Ala	Leu	Gly	Ile	Leu	Val	Thr	Phe	His	Leu		
			805					810					815				
Pro	Lys	Cys	Tyr	Val	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro	Lys	Leu	Asn	Thr	Gln	Glu		
			820					825					830				

Phe Phe Leu Gly Arg Asn Ala Lys Lys Ala Ala Asp Glu Asn Ser Gly
835 840 845
Gly Gly Glu Ala Ala Gln Gly His Asn Glu
850 855

<210> 6
<211> 1353
<212> DNA
<213> Mus musculus

<300>
<308> GENBANK M80632

<400> 6
caggccctgt gatgtcacct ggtaggtctgt gaagcgcca cc 42

atg gcc cgg tcc ctg act tgg ggc tgc tgt ccc tgg tgc ctg aca gag 90
Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Gly Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
1 5 10 15
gag gag aag act gcc gcc aga atc gac cag gag atc aac agg att ttg 138
Glu Glu Lys Thr Ala Ala Arg Ile Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
20 25 30
ttg gaa cag aaa aaa caa gag cgc gag gaa ttg aaa ctc ctg ttg 186
Leu Glu Gln Lys Lys Gln Glu Arg Glu Glu Leu Lys Leu Leu Leu
35 40 45
ggg cct ggt gag agc ggg aag agt acg ttc atc aag cag atg cgc atc 234
Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
50 55 60
att cac ggt gtg ggc tac tgc gag gag gac cgc aga gcc ttc cgg ctg 282
Ile His Gly Val Gly Tyr Ser Glu Glu Asp Arg Arg Ala Phe Arg Leu
65 70 75 80
ctc atc tac cag aac atc ttc gtc tcc atg cag gcc atg ata gat gcg 330
Leu Ile Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Gln Ala Met Ile Asp Ala
85 90 95
atg gac cgg ctg cag atc ccc ttc agc agg cct gac agc aag cag cac 378
Met Asp Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Asp Ser Lys Gln His
100 105 110
gcc agc cia gtg atg acc cag gac ccc tat aaa gtc agc aca ttc gag 426
Ala Ser Leu Val Met Thr Gln Asp Pro Tyr Lys Val Ser Thr Phe Glu
115 120 125
aag cca tat gca gtg gcc atg cag tac ctg tgg cgg gac gcg ggc atc 474
Lys Pro Tyr Ala Val Ala Met Gln Tyr Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
130 135 140
cgt gca tgc tac gag cga agg cgt gaa ttc cac ctt ctg gac tcc gcg 522

Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 gig tat tac ctg tca cac ctg gag cgc ata tca gag gac agc tac atc 570
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Ser Glu Asp Ser Tyr Ile
 165 170 175
 ccc act gcg caa gac gtg ctg cgc agt cgc atg ccc acc aca ggc atc 618
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
 180 185 190
 aat gag tac tgc ttc tcc gtg aag aaa acc aaa ctg cgc atc gtg gat 666
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Lys Lys Thr Lys Leu Arg Ile Val Asp
 195 200 205
 gtt ggt ggc cag agg tca gag cgt agg aaa tgg att cac tgt ttc gag 714
 Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu Arg Arg Lys Trp Ile His Cys Phe Glu
 210 215 220
 aac gtg att gcc ctc atc tac ctg gcc tcc ctg agc gag tat gac cag 762
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln
 225 230 235 240
 tgc cta gag gag aac gat cag gag aac cgc atg gag gag agt ctc gct 810
 Cys Leu Glu Glu Asn Asp Gln Glu Asn Arg Met Glu Glu Ser Leu Ala
 245 250 255
 ctg ttc agc acg atc cta gag ctg ccc tgg ttc aag agc acc tgc gtc 858
 Leu Phe Ser Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val
 260 265 270
 atc ctc ttc ctc aac aag acg gac atc ctg gaa gat aag att cac acc 906
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Asp Lys Ile His Thr
 275 280 285
 tcc cac ctg gcc aca tac ttc ccc agc ttc cag gga ccc cgg cga gac 954
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Arg Arg Asp
 290 295 300
 gca gag gcc gcc aag agc ttc atc ttg gac atg tat gcg cgc gtg tac 1002
 Ala Glu Ala Ala Lys Ser Phe Ile Leu Asp Met Tyr Ala Arg Val Tyr
 305 310 315 320
 gcg agc tgc gca gag ccc cag gac ggt ggc agg aaa ggc tcc cgc gcg 1050
 Ala Ser Cys Ala Glu Pro Gln Asp Gly Gly Arg Lys Gly Ser Arg Ala
 325 330 335
 cgc cgc ttc ttc gca cac ttc acc tgt gcc acg gac acg caa agc gtc 1098
 Arg Arg Phe Phe Ala His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Ser Val
 340 345 350
 cgc agc gtg ttc aag gac gtg cgg gac tgc gtg ctg gcc cgg tac ctg 1146
 Arg Ser Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu
 355 360 365
 gac gag atc aac ctg ctg 1164
 Asp Glu Ile Asn Leu Leu
 370

tgacgcggga cagggaaacc caagcgcgac gcgtcgtggc gaggacatac cccccctgg 1224
 tggccgcgcg tggaaactgca ggtccaggag ctgccaagtg gggaagccag cccacaggag 1284
 agagtcctgc ttctactggg cccaagcca gctcctgtaa ttattcctcg ccttctctag 1344
 tgttggaag

<210> 7
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<400> 7
 cgcaagcttt ctgtgaagcg cccaccaig

<210> 8
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<400> 8
 gcattacgat gcggccgcgc gtcacagcag gttgatic

<210> 9
 <211> 2060
 <212> DNA
 <213> Homosapiens

<300>
 <308> GENBANK M63904

<400>
 tgttcccagc actcaagcct tgcaccgcc gagccgggct tcctgggtgt ttacaggcaag 60
 gaagctcagg tccctggggg gtgaccccca aggaaaaggc agcctccctg cgcacccggt 120
 tgcccggagc cctctccagg gccggctggg ctgggggttg ccttgccag caggggccc 180
 ggggcgaigc caccgggtgc cgactgagc caccgcacc 219
 atg gcc cgc tgc ctg acc tgg cgc tgc tgc ccc tgg tgc ctg acg gag 267
 Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
 1 5 10 15
 gat gag aag gcc gcc gcc cgg gtg gac cag gag atc aac agg atc ctc 315
 Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
 20 25 30
 ttg gag cag aag aag cag gac cgc ggg gag ctg aag ctg ctg ctt ttg 363
 Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu
 35 40 45
 ggc cca ggc gag agc ggg aag agc acc ttc atc aag cag atg cgg atc 411

Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
 50 55 60
 atc cac ggc gcc ggc tac tgc gag gag gag cgc aag ggc ttc cgg ccc 459
 Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro
 65 70 75 80
 ctg gtc tac cag aac atc ttc gtg tcc atg cgg gcc atg atc gag gcc 507
 Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala
 85 90 95
 atg gag cgg ctg cag att cca ttc agc agg ccc gag agc aag cac cac 555
 Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His
 100 105 110
 gct agc ctg gtc atg agc cag gac ccc tat aaa gtg acc acg ttt gag 603
 Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu
 115 120 125
 aag cgc tac gct gcg gcc atg cag tgg ctg tgg agg gat gcc ggc atc 651
 Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
 130 135 140
 cgg gcc tgc tat gag cgt cgg cgg gaa ttc cac ctg ctc gat tca gcc 669
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
 145 150 155 160
 gtg tac tac ctg tcc cac ctg gag cgc atc acc gag gag ggc tac gtc 747
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val
 165 170 175
 ccc aca gct cag gac gtg ctc cgc agc cgc atg ccc acc act ggc atc 795
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
 180 185 190
 aac gag tac tgc ttc tcc gtg cag aaa acc aac ctg cgg atc gtg gac 843
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp
 195 200 205
 gtc ggg ggc cag aag tca gag cgt aag aaa tgg atc cat tgt ttc gag 891
 Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu
 210 215 220
 aac gtg atc gcc ctc atc tac ctg gcc tca ctg agt gaa tac gac cag 939
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln
 225 230 235 240
 tgc ctg gag gag aac aac cag gag aac cgc atg aag gag agc ctc gca 987
 Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala
 245 250 255
 ttg ttt ggg act atc ctg gaa cta ccc tgg ttc aaa agc aca tcc gtc 1035
 Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val
 260 265 270
 atc ctc ttt ctc aac aaa acc gac atc ctg gag gag aaa atc ccc acc 1083
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr
 275 280 285

tcc cac ctg gct acc tat ttc ccc agt ttc cag ggc cct aag cag gat 1131
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp
 290 295 300
 gct gag gca gcc aag agg ttc atc ctg gac atg tac acg agg atg tac 1179
 Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr
 305 310 315 320
 acc ggg tgc gtg gac ggc ccc gag ggc agc aag aag ggc gca cga tcc 1227
 Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Lys Lys Gly Ala Arg Ser
 325 330 335
 cga cgc ctt ttc agc cac tac aca tgt gcc aca gac aca cag aac atc 1275
 Arg Arg Leu Phe Ser His Tyr Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Asn Ile
 340 345 350
 cgc aag gtc ttc aag gac gtg cgg gac tgc gtg ctc gcc cgc tac ctg 1323
 Arg Lys Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu
 355 360 365
 gac gag atc aac ctg ctg 1341
 Asp Glu Ile Asn Leu Leu
 370
 tgaccaggc cccacctggg gcaggcggca ccggcgggcg ggtagggaggt gggagtaggct 1401
 gcagggaccc tagtgtcctg gtctatctct ccagcctcgg cccacacgca agggagtcgg 1461
 gggacggccc gctgctggcc gctctcttct ctgcccttca ccaggacagc cgccccccag 1521
 ggtacctctg ccttgccttg actcagtttc cctccttga aagggaagga gcaaacggc 1581
 catttgggat gccagggtgg atgaaaaggI gaagaaatca ggggattgag acttgggtgg 1641
 gtgggcatct ctacaggagcc ccatctccgg gcgtgtcacc tcttgggcag ggltctggga 1701
 cctctgttgg gtgacgcaca ccttgggaig gggctagtag agccttcagg cgccttcggg 1761
 cgttgactct ggcgcactct agtggacagg agaaggaacg ccttccagga acctgtggac 1821
 taggggtgca gggacttccc ttigcaaggg glaacagacc gctggaaaac actgtcactt 1881
 tcagagctcg gtggctcaca gcgtgtcctg ccccggttgg cggacgagag aaatcgcggc 1941
 ccacaagcat ccccatccc ttgcaggctg ggggctgggc atgcigcatc ttaacctttt 2001
 gtatttattc cctcaccttc tgcagggtct cgtgcgggct gaaattaaag atttcttag 2060

<210> 10
 <211> 2679
 <212> DNA
 <213> Homosapiens

<300>
 <308> GENBANK NM_002073

<400> 10
 gagaccagga cc 12
 atg gga tgl cgg caa agc tca gag gaa aaa gaa gca gcc cgg cgg tcc 60
 Met Gly Cys Arg Gln Ser Ser Glu Glu Lys Glu Ala Ala Arg Arg Ser
 1 5 10 15

cgg aga att gac cgc cac ctg cgc tca gag agc cag cgg caa cgc cgc 108
 Arg Arg Ile Asp Arg His Leu Arg Ser Glu Ser Gln Arg Gln Arg Arg
 20 25 30
 gaa atc aag ctg ctc ctg ctg ggc acc agc aac tca ggc aag agc acc 156
 Glu Ile Lys Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Gly Lys Ser Thr
 35 40 45
 atc gtc aaa cag atg aag atc atc cac agc ggc ggc ttc aac ctg gag 204
 Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Ser Gly Gly Phe Asn Leu Glu
 50 55 60
 gcc tgc aag gag tac aag ccc ctc atc atc tac aat gcc atc gac tgc 252
 Ala Cys Lys Glu Tyr Lys Pro Leu Ile Ile Tyr Asn Ala Ile Asp Ser
 65 70 75 80
 ctg acc cgc atc atc cgg gcc ctg gcc gcc ctc agg atc gac ttc cac 300
 Leu Thr Arg Ile Ile Arg Ala Leu Ala Ala Leu Arg Ile Asp Phe His
 85 90 95
 aac ccc gac cgc gcc tac gac gct gtg cag ctc ttt gcg ctg acg ggc 348
 Asn Pro Asp Arg Ala Tyr Asp Ala Val Gln Leu Phe Ala Leu Thr Gly
 100 105 110
 ccc gct gag agc aag ggc gag atc aca ccc gag ctg ctg ggt gtc atg 396
 Pro Ala Glu Ser Lys Gly Glu Ile Thr Pro Glu Leu Leu Gly Val Met
 115 120 125
 cga cgg ctc tgg gcc gac cca ggg gca cag gcc tgc ttc agc cgc tcc 444
 Arg Arg Leu Trp Ala Asp Pro Gly Ala Gln Ala Cys Phe Ser Arg Ser
 130 135 140
 agc gag tac cac ctg gag gac aac gcg gcc tac tac ctg aac gac ctg 492
 Ser Glu Tyr His Leu Glu Asp Asn Ala Ala Tyr Tyr Leu Asn Asp Leu
 145 150 155 160
 gag cgc atc gcc gca gct gac tat atc ccc act gtc gag gac atc ctg 540
 Glu Arg Ile Ala Ala Ala Asp Tyr Ile Pro Thr Val Glu Asp Ile Leu
 165 170 175
 cgc tcc cgg gac atg acc acg ggc att gtg gag aac aag ttc acc ttc 588
 Arg Ser Arg Asp Met Thr Thr Gly Ile Val Glu Asn Lys Phe Thr Phe
 180 185 190
 aag gag ctc acc ttc aag atg gtg gac gtg ggg ggg cag agg tca gag 636
 Lys Glu Leu Thr Phe Lys Met Val Asp Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu
 195 200 205
 cgc aaa aag tgg atc cac tgc ttc gag ggc gtc aca gcc atc atc ttc 684
 Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Gly Val Thr Ala Ile Ile Phe
 210 215 220
 tgt gtg gag ctc agc ggc tac gac ctg aaa ctc tac gag gat aac cag 732
 Cys Val Glu Leu Ser Gly Tyr Asp Leu Lys Leu Tyr Glu Asp Asn Gln
 225 230 235 240
 aca agt cgg atg gca gag agc itg cgc ctc ttt gac tcc atc tgc aac 780
 Thr Ser Arg Met Ala Glu Ser Leu Arg Leu Phe Asp Ser Ile Cys Asn

245 250 255
 aac aac tgg ttc atc aac acc tca ctc atc ctc ttc ctc aac aag aag 828
 Asn Asn Trp Phe Ile Asn Thr Ser Leu Ile Leu Phe Leu Asn Lys Lys
 260 265 270
 gac ctc ctc gca gag aag atc cgc cgc atc ccg ctc acc atc tgc ttt 876
 Asp Leu Leu Ala Glu Lys Ile Arg Arg Ile Pro Leu Thr Ile Cys Phe
 275 280 285
 ccc gag tac aag ggc cag aac acg tac gag gag gcc gct gtc tac atc 924
 Pro Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Thr Tyr Glu Glu Ala Ala Val Tyr Ile
 290 295 300
 cag cgg cag ttt gaa gac ctc aac cgc aac aag gag acc aag gag atc 972
 Gln Arg Gln Phe Glu Asp Leu Asn Arg Asn Lys Glu Thr Lys Glu Ile
 305 310 315 320
 tac tcc cac ttc acc tgc gcc acc gac acc agt aac atc cag ttt gtc 1020
 Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile Gln Phe Val
 325 330 335
 ttc gac gcg gtg aca gac gtc atc ata cag aac aat ctc aag tac att 1068
 Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu Lys Tyr Ile
 340 345 350
 ggc ctt tgc 1077
 Gly Leu Cys
 355

tgaggagctg ggccccggggc gcctgcctat ggtgaaaccc acgggggtgtc atgccccaac 1137
 gcgtgctaga gaggcccaat ccaggggcag aaaacagggg gcctaaagaa tgtccccac 1197
 cccctggcct ctcctctctt ggccccacat ttctgcaaac ataaatattt acggatagat 1257
 tgcctagtag atagacacac acacatgcac acacacacat ctggagatgg caaaatctc 1317
 taaaatgtcg aggtctcttg aagacttgag aagctgtcac aaggtcacta caagcccaac 1377
 ctgccccctc acttgcctt cctgagttgg cccacttcca ctgggggtc tgcattggat 1437
 tgttagggat aggcagcagg gctgaggcaa ggtaggccaa ctgcacccct gtcacctgga 1497
 ggaggggccgg ctgcctgccc gagctctggc ctagggacct tgcgcctgac caagaggag 1557
 gaccagtga gggctctgac accttccctg ctggcctgca cacagctgt cagcaccatt 1617
 tcattcigga cctgggacct taggagccgg gtgacagcac taaccagacc tccagccact 1677
 cacagctctt tttaaaaaac agcttcaaaa tatgcagcaa aaaccaat acacaaaacga 1737
 gtggcacgat ttatttcaaa ctaggccagc tgggattcca gctttcttc tactagtctg 1797
 atgttttata aatcaaaacc tggttttctt tctctggcat tttttttgt tttttgtttt 1857
 ttgtttttt tttttttttt ggccaaatct cgttgtgttt cgcagaaaaa aatccagaaa 1917
 atttcaaatg cagttagia ttctttttta aatgcagatt ttcaaaacat attttttttc 1977
 aggtggcttt ttttgtctt ggctgtctga gtgtaaaagt tgttatctgg acgatctgtc 2037
 tctctgtctc aaagaaatit tggagttagt ggcagttctg cgcagccctc gcgggacacg 2097
 tgttgtacat aagcctctgc agtgtctctt tgttaatggt ggggttttct gctttgtttt 2157
 tatttaagaa aataaacacg acatatitaa agaaggctt ttaccctggg agcaaatgaa 2217
 caatagctaa gtgtcttgg atitaaagag taaattattt gtggcttctg ttagtgaagg 2277
 aaggggagca aggggtgtg cccctgtctc cagcatgccc cgcgctgag actggctgga 2337

aatgctctga ctccctigaa ggcacagcca gcgttgtggc ctgagggagg ccctgctggg 2397
accctgatct gggcccttct gtcccagggc ctatgggcaa ctgcgtigaa aggacgttcg 2457
ccaagggccg tigttaaata cgaactgcgc catggagagg agaggcacig ccggagccct 2517
tgccagatct cctccctct ctctgtgcag tagctgtgtg tccgaggica gigtgcggaa 2577
tcacagccaa ggacgtgaag agatgtacgg gggaaagaga agctggggat tggatgaaag 2637
tcaaaggttg tctactitaa gaaaataaaa taccctgaat gg

<210> 11
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 11
cgcaagcttg actgaggcca ccgcaccat

<210> 12
<211> 29
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 12
ctccctgttt cggttgtcgc cctcggggc

<210> 13
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 13
ggccccgagg gcagcaaccg aaacaaggag

<210> 14
<211> 37
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 14
gcattacgat gcggccgcag ctccctcagca aaggcca

<210> 15
<211> 1122
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<300>

<301>SEJAL M. MODY, MAURICE K. C. HO, SUSHMA A. JOSHI, and YUNG H. WONG

<302>Incorporation of GalphaZ-Specific Sequence at the Carboxyl Terminus Increases the Promiscuity of Galpha16 toward Gi-Coupled Receptors

<303>The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics

<304>57

<306>13-23

<307>2000

<400> 15

```
atg gcc cgc tgc ctg acc tgg cgc tgc tgc ccc tgg tgc ctg acg gag 48
Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu
      1              5              10              15
gat gag aag gcc gcc gcc cgg gtg gac cag gag atc aac agg atc ctc 96
Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu
      20              25              30
ttg gag cag aag aag cag gac cgc ggg gag ctg aag ctg ctg ctt ttg 144
Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu Leu
      35              40              45
ggc cca ggc gag agc ggg aag agc acc ttc atc aag cag atg cgg atc 192
Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile
      50              55              60
atc cac ggc gcc gcc tac tgc gag gag gag cgc aag ggc ttc cgg ccc 240
Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro
      65              70              75              80
ctg gtc tac cag aac atc ttc gtg tcc atg cgg gcc atg atc gag gcc 288
Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala
      85              90              95
atg gag cgg ctg cag att cca ttc agc agg ccc gag agc aag cac cac 336
Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His
      100              105              110
gct agc ctg gtc atg agc cag gac ccc tat aaa gtg acc acg ttt gag 384
Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu
      115              120              125
aag cgc tac gct gcg gcc atg cag tgg ctg tgg agg gat gcc ggc atc 432
Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile
      130              135              140
cgg gcc tgc tat gag cgt cgg cgg gaa ttc cac ctg ctg gat tca gcc 480
Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala
      145              150              155              160
gig tac tac ctg tcc cac ctg gag cgc atc acc gag gag ggc tac gtc 528
Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val
      165              170              175
ccc aca gct cag gac gtg ctg cgc agc cgc atg ccc acc act ggc atc 576
Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile
```

	180		185		190	
aac gag tac tgc ttc tcc gtg cag aaa acc aac ctg cgg atc gtg gac	624					
Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp						
195		200		205		
gtc ggg ggc cag aag tca gag cgt aag aaa tgg atc cat tgt ttc gag	672					
Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu						
210		215		220		
aac gtg atc gcc ctc atc tac ctg gcc tca ctg agt gaa tac gac cag	720					
Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln						
225		230		235		240
tgc ctg gag gag aac aac cag gag aac cgc atg aag gag agc ctc gca	768					
Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala						
245		250		255		
tig ttt ggg act atc ctg gaa cta ccc tgg ttc aaa agc aca tcc gtc	816					
Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val						
260		265		270		
atc ctc ttt ctc aac aaa acc gac atc ctg gag gag aaa atc ccc acc	864					
Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr						
275		280		285		
tcc cac ctg gct acc tat ttc ccc agt ttc cag ggc cct aag cag gat	912					
Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp						
290		295		300		
gct gag gca gcc aag agg ttc atc ctg gac atg tac acg agg atg tac	960					
Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr						
305		310		315		320
acc ggg tgc gtg gac ggc ccc gag ggc agc aac cgc aac aag gag acc	1008					
Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Asn Arg Asn Lys Glu Thr						
325		330		335		
aag gag atc tac tcc cac ttc acc tgc gcc acc gac acc agt aac atc	1056					
Lys Glu Ile Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile						
340		345		350		
cag ttt gtc ttc gac gcg gtg aca gac gtc atc ata cag aac aat ctc	1104					
Gln Phe Val Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu						
355		360		365		
aag tac att ggc ctt tgc						
Lys Tyr Ile Gly Leu Cys						
370						

<210> 16
 <211> 2529
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<300>

<308>GENBANK AY032622

<400> 16

```
atg ctt ttc tgg gca gct cac ctg ctg ctc agc ctg cag ctg gcc gtt 48
Met Leu Phe Trp Ala Ala His Leu Leu Leu Ser Leu Gln Leu Ala Val
   1             5             10             15
gct tac tgc tgg gct ttc agc tgc caa agg aca gaa tcc tct cca ggt 96
Ala Tyr Cys Trp Ala Phe Ser Cys Gln Arg Thr Glu Ser Ser Pro Gly
   20             25             30
ttc agc ctc cct ggg gac ttc ctc ctg gca ggc ctg ttc tcc ctc cat 144
Phe Ser Leu Pro Gly Asp Phe Leu Leu Ala Gly Leu Phe Ser Leu His
   35             40             45
gct gac tgt ctg cag gtg aga cac aga cct ctg gtg aca agt tgt gac 192
Ala Asp Cys Leu Gln Val Arg His Arg Pro Leu Val Thr Ser Cys Asp
   50             55             60
agg tct gac agc ttc aac ggc cat ggc tat cac ctc ttc caa gcc atg 240
Arg Ser Asp Ser Phe Asn Gly His Gly Tyr His Leu Phe Gln Ala Met
   65             70             75             80
cgg ttc acc gtt gag gag ala aac aac tcc aca gct ctg ctt ccc aac 288
Arg Phe Thr Val Glu Glu Ile Asn Asn Ser Thr Ala Leu Leu Pro Asn
   85             90             95
atc acc ctg ggg tat gaa ctg tat gac gtg tgc tca gag tct tcc aat 336
Ile Thr Leu Gly Tyr Glu Leu Tyr Asp Val Cys Ser Glu Ser Ser Asn
  100             105             110
gtc tat gcc acc ctg agg gtg ccc gcc cag caa ggg aca ggc cac cta 384
Val Tyr Ala Thr Leu Arg Val Pro Ala Gln Gln Gly Thr Gly His Leu
  115             120             125
gag atg cag aga gat ctt cgc aac cac tcc tcc aag gtg gtg gca ctc 432
Glu Met Gln Arg Asp Leu Arg Asn His Ser Ser Lys Val Val Ala Leu
  130             135             140
att ggg cct gat aac act gac cac gct gtc acc act gct gcc ctg ctg 480
Ile Gly Pro Asp Asn Thr Asp His Ala Val Thr Thr Ala Ala Leu Leu
  145             150             155             160
agc cct ttt ctg atg ccc ctg gtc agc tat gag gcg agc agc gtg atc 528
Ser Pro Phe Leu Met Pro Leu Val Ser Tyr Glu Ala Ser Ser Val Ile
  165             170             175
ctc agt ggg aag cgc aag ttc ccg tcc ttc ttg cgc acc atc ccc agc 576
Leu Ser Gly Lys Arg Lys Phe Pro Ser Phe Leu Arg Thr Ile Pro Ser
  180             185             190
gat aag tac cag gtg gaa gtc ata gig cgg ctg ctg cag agc ttc ggc 624
Asp Lys Tyr Gln Val Glu Val Ile Val Arg Leu Leu Gln Ser Phe Gly
  195             200             205
tgg gtc tgg atc tgc ctc gtt ggc agc tat ggt gac tac ggg cag ctg 672
Trp Val Trp Ile Ser Leu Val Gly Ser Tyr Gly Asp Tyr Gly Gln Leu
```

210	215	220	
ggc gta cag gcg ctg gag gag ctg gcc act cca cgg ggc atc tgc gtc			720
Gly Val Gln Ala Leu Glu Glu Leu Ala Thr Pro Arg Gly Ile Cys Val			
225	230	235	240
gcc ttc aag gac gtg gtg cct ctg tcc gcc cag gcg ggt gac cca agg			768
Ala Phe Lys Asp Val Val Pro Leu Ser Ala Gln Ala Gly Asp Pro Arg			
245	250	255	
atg cag cgc atg atg ctg cgt ctg gct cga gcc agg acc acc gtg gtc			816
Met Gln Arg Met Met Leu Arg Leu Ala Arg Ala Arg Thr Thr Val Val			
260	265	270	
gtg gtc ttc tct aac cgg cac ctg gct gga gtg ttc ttc agg tct gtg			864
Val Val Phe Ser Asn Arg His Leu Ala Gly Val Phe Phe Arg Ser Val			
275	280	285	
gtg ctg gcc aac ctg act ggc aaa gtg tgg atc gcc tcc gaa gac tgg			912
Val Leu Ala Asn Leu Thr Gly Lys Val Trp Ile Ala Ser Glu Asp Trp			
290	295	300	
gcc atc tcc acg tac atc acc aat gtg ccc ggg atc cag ggc att ggg			960
Ala Ile Ser Thr Tyr Ile Thr Asn Val Pro Gly Ile Gln Gly Ile Gly			
305	310	315	320
acg gtg ctg ggg gtg gcc atc cag cag aga caa gtc cct ggc ctg aag			1008
Thr Val Leu Gly Val Ala Ile Gln Gln Arg Gln Val Pro Gly Leu Lys			
325	330	335	
gag ttt gaa gag tcc tat gtc cag gca gtg atg ggt gct ccc aga act			1056
Glu Phe Glu Glu Ser Tyr Val Gln Ala Val Met Gly Ala Pro Arg Thr			
340	345	350	
tgc cca gag ggg tcc tgg tgc ggc act aac cag ctg tgc agg gag tgt			1104
Cys Pro Glu Gly Ser Trp Cys Gly Thr Asn Gln Leu Cys Arg Glu Cys			
355	360	365	
cac gct ttc acg aca tgg aac atg ccc gag ctt gga gcc ttc tcc atg			1152
His Ala Phe Thr Thr Trp Asn Met Pro Glu Leu Gly Ala Phe Ser Met			
370	375	380	
agc gct gcc tac aat gtg tat gag gct gtg tat gct gtg gcc cac ggc			1200
Ser Ala Ala Tyr Asn Val Tyr Glu Ala Val Tyr Ala Val Ala His Gly			
385	390	395	400
ctc cac cag ctg ctg gga tgt acc tct ggg acc tgt gcc aga ggc cca			1248
Leu His Gln Leu Leu Gly Cys Thr Ser Gly Thr Cys Ala Arg Gly Pro			
405	410	415	
gtc tac ccc tgg cag ctt ctt cag cag atc tac aag gtg aat ttc ctt			1296
Val Tyr Pro Trp Gln Leu Leu Gln Gln Ile Tyr Lys Val Asn Phe Leu			
420	425	430	
cta cat aag aag act gta gca ttc gat gac aag ggg gac cct cta ggt			1344
Leu His Lys Lys Thr Val Ala Phe Asp Asp Lys Gly Asp Pro Leu Gly			
435	440	445	
tat tat gac atc atc gcc tgg gac tgg aat gga cct gaa tgg acc ttt			1392

Tyr	Tyr	Asp	Ile	Ile	Ala	Trp	Asp	Trp	Asn	Gly	Pro	Glu	Trp	Thr	Phe	
450						455					460					
gag	gtc	att	ggt	tct	gcc	tca	ctg	tct	cca	gtt	cat	cta	gac	ata	aat	1440
Glu	Val	Ile	Gly	Ser	Ala	Ser	Leu	Ser	Pro	Val	His	Leu	Asp	Ile	Asn	
465					470					475					480	
aag	aca	aaa	atc	cag	igg	cac	ggg	aag	aac	aat	cag	gtg	cct	gtg	tca	1488
Lys	Thr	Lys	Ile	Gln	Trp	His	Gly	Lys	Asn	Asn	Gln	Val	Pro	Val	Ser	
			485						490						495	
gtg	tgt	acc	agg	gac	tgt	ctc	gaa	ggg	cac	cac	agg	tig	gtc	atg	ggt	1536
Val	Cys	Thr	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Gly	His	His	Arg	Leu	Val	Met	Gly	
			500						505					510		
tcc	cac	cac	tgc	tgc	ttc	gag	tgc	aig	ccc	tgt	gaa	gct	ggg	aca	ttt	1584
Ser	His	His	Cys	Cys	Phe	Glu	Cys	Met	Pro	Cys	Glu	Ala	Gly	Thr	Phe	
			515						520					525		
ctc	aac	acg	agt	gag	ctt	cac	acc	tgc	cag	cct	tgt	gga	aca	gaa	gaa	1632
Leu	Asn	Thr	Ser	Glu	Leu	His	Thr	Cys	Gln	Pro	Cys	Gly	Thr	Glu	Glu	
			530						535					540		
tgg	gcc	cct	gag	ggg	agc	tca	gcc	tgc	ttc	tca	cgc	acc	gtg	gag	ttc	1680
Trp	Ala	Pro	Glu	Gly	Ser	Ser	Ala	Cys	Phe	Ser	Arg	Thr	Val	Glu	Phe	
545					550					555					560	
tig	ggg	tgg	cat	gaa	ccc	atc	tct	tig	gtg	cta	tta	gca	gct	aac	acg	1728
Leu	Gly	Trp	His	Glu	Pro	Ile	Ser	Leu	Val	Leu	Leu	Ala	Ala	Asn	Thr	
				565					570					575		
cta	tig	ctg	ctg	ctg	ctg	att	ggg	act	gct	ggc	ctg	ttt	gcc	tgg	cgt	1776
Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Ile	Gly	Thr	Ala	Gly	Leu	Phe	Ala	Trp	Arg	
				580					585					590		
ctt	cac	acg	cct	gtt	gtg	agg	tca	gct	ggg	ggt	agg	ctg	tgc	ttc	cic	1824
Leu	His	Thr	Pro	Val	Val	Arg	Ser	Ala	Gly	Gly	Arg	Leu	Cys	Phe	Leu	
			595						600					605		
atg	ctg	ggt	tcc	tig	gta	gct	ggg	agt	tgc	agc	ctc	tac	agc	ttc	ttc	1872
Met	Leu	Gly	Ser	Leu	Val	Ala	Gly	Ser	Cys	Ser	Leu	Tyr	Ser	Phe	Phe	
			610						615					620		
ggg	aag	ccc	acg	gtg	ccc	gcg	tgc	tig	ctg	cgt	cag	ccc	ctc	ttt	tct	1920
Gly	Lys	Pro	Thr	Val	Pro	Ala	Cys	Leu	Leu	Arg	Gln	Pro	Leu	Phe	Ser	
625					630					635					640	
ctc	ggg	ttt	gcc	att	ttc	ctc	tcc	tgt	ctg	aca	atc	cgc	tcc	ttc	caa	1968
Leu	Gly	Phe	Ala	Ile	Phe	Leu	Ser	Cys	Leu	Thr	Ile	Arg	Ser	Phe	Gln	
				645					650					655		
ctg	gtc	atc	atc	ttc	aag	ttt	tct	acc	aag	gta	ccc	aca	ttc	tac	cac	2016
Leu	Val	Ile	Ile	Phe	Lys	Phe	Ser	Thr	Lys	Val	Pro	Thr	Phe	Tyr	His	
				660					665					670		
act	tgg	gcc	caa	aac	cat	ggt	gcc	gga	ata	ttc	gtc	att	gtc	agc	tcc	2064
Thr	Trp	Ala	Gln	Asn	His	Gly	Ala	Gly	Ile	Phe	Val	Ile	Val	Ser	Ser	
			675						680					685		

acg gtc cat ttg ttc ctc tgc ctc acg tgg ctt gca atg tgg acc cca 2112
 Thr Val His Leu Phe Leu Cys Leu Thr Trp Leu Ala Met Trp Thr Pro
 690 695 700
 cgg ccc acc agg gag tac cag cgc ttc ccc cat ctg gtg att ctt gag 2160
 Arg Pro Thr Arg Glu Tyr Gln Arg Phe Pro His Leu Val Ile Leu Glu
 705 710 715 720
 tgc aca gag gtc aac tct gtg ggc ttc ctg gtg gct ttc gca cac aac 2208
 Cys Thr Glu Val Asn Ser Val Gly Phe Leu Val Ala Phe Ala His Asn
 725 730 735
 atc ctc ctc tcc atc agc acc ttt gtc tgc agc tac ctg ggt aag gaa 2256
 Ile Leu Leu Ser Ile Ser Thr Phe Val Cys Ser Tyr Leu Gly Lys Glu
 740 745 750
 ctg ccg gag aac tat aac gaa gcc aaa tgt gtc acc ttc agc ctg ctc 2304
 Leu Pro Glu Asn Tyr Asn Glu Ala Lys Cys Val Thr Phe Ser Leu Leu
 755 760 765
 ctc cac ttc gta tcc tgg atc gct ttc ttc acc atg tcc agc att tac 2352
 Leu His Phe Val Ser Trp Ile Ala Phe Phe Thr Met Ser Ser Ile Tyr
 770 775 780
 cag ggc agc tac cta ccc gcg gtc aat gtg ctg gca ggg ctg gcc act 2400
 Gln Gly Ser Tyr Leu Pro Ala Val Asn Val Leu Ala Gly Leu Ala Thr
 785 790 795 800
 ctg agt ggc ggc ttc agc ggc tat ttc ctc cct aaa tgc tac gtg att 2448
 Leu Ser Gly Gly Phe Ser Gly Tyr Phe Leu Pro Lys Cys Tyr Val Ile
 805 810 815
 ctc tgc cgt cca gaa ctc aac aac aca gaa cac ttt cag gcc tcc atc 2496
 Leu Cys Arg Pro Glu Leu Asn Asn Thr Glu His Phe Gln Ala Ser Ile
 820 825 830
 cag gac tac acg agg cgc tgc ggc act acc tga
 Gln Asp Tyr Thr Arg Arg Cys Gly Thr Thr
 835 840

<210> 17

<211> 2532

<212> DNA

<213> Mus musculus

<300>

<308>GENBANK AY032623

<400> 17

atg gga ccc cag gcg agg aca ctc cat ttg ctg ttt ctc ctg ctg cat 48
 Met Gly Pro Gln Ala Arg Thr Leu His Leu Leu Phe Leu Leu Leu His
 1 5 10 15
 gct ctg cct aag cca gtc atg ctg gta ggg aac tcc gac ttt cac ctg 96

Ala Leu Pro Lys Pro Val Met Leu Val Gly Asn Ser Asp Phe His Leu
 20 25 30
 gct ggg gac tac ctc ctg ggt ggc ctc ttt acc ctc cat gcc aac gtg 144
 Ala Gly Asp Tyr Leu Leu Gly Gly Leu Phe Thr Leu His Ala Asn Val
 35 40 45
 aag agt gtc tct cac ctc agc tac ctg cag gtg ccc aag tgc aat gag 192
 Lys Ser Val Ser His Leu Ser Tyr Leu Gln Val Pro Lys Cys Asn Glu
 50 55 60
 tac aac atg aag gtg ttg ggc tac aac ctc atg cag gcc atg cga ttc 240
 Tyr Asn Met Lys Val Leu Gly Tyr Asn Leu Met Gln Ala Met Arg Phe
 65 70 75 80
 gcc gtg gag gaa atc aac aac tgt agc tct ttg ctg ccc ggc gtg ctg 288
 Ala Val Glu Glu Ile Asn Asn Cys Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Leu
 85 90 95
 ctc ggc tac gag atg gtg gat gtc tgc tac ctc tcc aac aat atc cag 336
 Leu Gly Tyr Glu Met Val Asp Val Cys Tyr Leu Ser Asn Asn Ile Gln
 100 105 110
 cct ggg ctc tac ttc ctg tca cag ata gat gac ttc ctg ccc atc ctc 384
 Pro Gly Leu Tyr Phe Leu Ser Gln Ile Asp Asp Phe Leu Pro Ile Leu
 115 120 125
 aaa gac tac agc cag tac agg ccc caa glg gtg gct gtt att ggc cca 432
 Lys Asp Tyr Ser Gln Tyr Arg Pro Gln Val Val Ala Val Ile Gly Pro
 130 135 140
 gac aac tct gag tct gcc atc acc gtg tcc aac att ctc tcc tac ttc 480
 Asp Asn Ser Glu Ser Ala Ile Thr Val Ser Asn Ile Leu Ser Tyr Phe
 145 150 155 160
 ctc gtg cca cag gtc aca tat agc gcc atc acc gac aag ctg caa gac 528
 Leu Val Pro Gln Val Thr Tyr Ser Ala Ile Thr Asp Lys Leu Gln Asp
 165 170 175
 aag cgg cgc ttc cct gcc atg ctg cgc act gtg ccc agc gcc acc cac 576
 Lys Arg Arg Phe Pro Ala Met Leu Arg Thr Val Pro Ser Ala Thr His
 180 185 190
 cac atc gag gcc atg gtg caa ctg atg gtt cac ttc cag tgg aac tgg 624
 His Ile Glu Ala Met Val Gln Leu Met Val His Phe Gln Trp Asn Trp
 195 200 205
 atc glg gtg ctg gtg agc gat gac gat tat ggc cga gag aac agc cac 672
 Ile Val Val Leu Val Ser Asp Asp Tyr Gly Arg Glu Asn Ser His
 210 215 220
 ctg ctg agc cag cgt ctg acc aac act ggc gac atc tgc att gcc ttc 720
 Leu Leu Ser Gln Arg Leu Thr Asn Thr Gly Asp Ile Cys Ile Ala Phe
 225 230 235 240
 cag gag gtt ctg ccc gla cca gaa ccc aac cag gct gtg agg cct gag 768
 Gln Glu Val Leu Pro Val Pro Glu Pro Asn Gln Ala Val Arg Pro Glu
 245 250 255

gag cag gac caa ctg gac aac atc ctg gac aag ctg cgg cgg act tcg 816
Glu Gln Asp Gln Leu Asp Asn Ile Leu Asp Lys Leu Arg Arg Thr Ser
260 265 270
gcg cgt gtg gtg gtg ata ttc tcg ccg gag ctg agc ctg cac aac ttc 864
Ala Arg Val Val Val Ile Phe Ser Pro Glu Leu Ser Leu His Asn Phe
275 280 285
ttc cgt gag gtg ctg cgc tgg aac ttc acg ggc ttt gtg tgg att gcc 912
Phe Arg Glu Val Leu Arg Trp Asn Phe Thr Gly Phe Val Trp Ile Ala
290 295 300
tct gag tcc tgg gcc atc gac cct gtt cta cac aac ctc aca gag ctg 960
Ser Glu Ser Trp Ala Ile Asp Pro Val Leu His Asn Leu Thr Glu Leu
305 310 315 320
cgc cac acg ggc act ttc ctg ggt gtc acc atc cag agg gtg tcc atc 1008
Arg His Thr Gly Thr Phe Leu Gly Val Thr Ile Gln Arg Val Ser Ile
325 330 335
cct ggc ttc agc cag ttc cga gtg cgc cat gac aag cca ggg tat cgc 1056
Pro Gly Phe Ser Gln Phe Arg Val Arg His Asp Lys Pro Gly Tyr Arg
340 345 350
atg cct aac gag acc agc ctg cgg act acc tgt aac cag gac tgc gac 1104
Met Pro Asn Glu Thr Ser Leu Arg Thr Thr Cys Asn Gln Asp Cys Asp
355 360 365
gcc tgc atg aac atc act gag tcc ttc aac aac gtt ctc atg ctt tcg 1152
Ala Cys Met Asn Ile Thr Glu Ser Phe Asn Asn Val Leu Met Leu Ser
370 375 380
ggg gag cgt gtg gtc tac agc gtg tac tcg gcc gtc tac gcg gtg gcc 1200
Gly Glu Arg Val Val Tyr Ser Val Tyr Ser Ala Val Tyr Ala Val Ala
385 390 395 400
cac acc ctc cac aga ctc ctc cac tgc aat cag gtc cgc tgc acc aag 1248
His Thr Leu His Arg Leu Leu His Cys Asn Gln Val Arg Cys Thr Lys
405 410 415
caa atc gtc tat cca tgg cag cta ctc agg gag atc tgg cat gtc aac 1296
Gln Ile Val Tyr Pro Trp Gln Leu Leu Arg Glu Ile Trp His Val Asn
420 425 430
ttc acg ctc ctg ggc aac cag ctc ttc ttc gac gaa caa ggg gac atg 1344
Phe Thr Leu Leu Gly Asn Gln Leu Phe Phe Asp Glu Gln Gly Asp Met
435 440 445
ccg atg ctc ctg gac atc atc cag tgg cag tgg ggc ctg agc cag aac 1392
Pro Met Leu Leu Asp Ile Ile Gln Trp Gln Trp Gly Leu Ser Gln Asn
450 455 460
ccc ttc caa agc atc gcc tcc tac tcc ccc acc gag acg agg ctg acc 1440
Pro Phe Gln Ser Ile Ala Ser Tyr Ser Pro Thr Glu Thr Arg Leu Thr
465 470 475 480
tac att agc aat gtg tcc tgg tac acc ccc aac aac acg gtc ccc ata 1488
Tyr Ile Ser Asn Val Ser Trp Tyr Thr Pro Asn Asn Thr Val Pro Ile

	485		490		495	
tcc atg tgt tct aag agt tgc cag cct ggg caa atg aaa aaa ccc ata	1536					
Ser Met Cys Ser Lys Ser Cys Gln Pro Gly Gln Met Lys Lys Pro Ile						
	500		505		510	
ggc ctc cac cca tgc tgc ttc gag tgt gtg gac tgt ccg ccg gac acc	1584					
Gly Leu His Pro Cys Cys Phe Glu Cys Val Asp Cys Pro Pro Asp Thr						
	515		520		525	
tac ctc aac cga tca gta gat gag ttt aac tgt ctg tcc tgc ccg ggt	1632					
Tyr Leu Asn Arg Ser Val Asp Glu Phe Asn Cys Leu Ser Cys Pro Gly						
	530		535		540	
tcc atg tgg tct tac aag aac aac atc gct tgc ttc aag cgg cgg ctg	1680					
Ser Met Trp Ser Tyr Lys Asn Asn Ile Ala Cys Phe Lys Arg Arg Leu						
	545		550		555	
gcc ttc ctg gag tgg cac gaa gtg ccc act atc gtg gtg acc atc ctg	1728					
Ala Phe Leu Glu Trp His Glu Val Pro Thr Ile Val Val Thr Ile Leu						
	565		570		575	
gcc gcc ctg ggc ttc atc agt acg ctg gcc att ctg ctc atc ttc tgg	1776					
Ala Ala Leu Gly Phe Ile Ser Thr Leu Ala Ile Leu Leu Ile Phe Trp						
	580		585		590	
aga cat ttc cag acg ccc atg gtg cgc tgc gcg ggc ggc ccc atg tgc	1824					
Arg His Phe Gln Thr Pro Met Val Arg Ser Ala Gly Gly Pro Met Cys						
	595		600		605	
ttc ctg atg ctg gtg ccc ctg ctg ctg gcg ttc ggg atg gtc ccc gtg	1872					
Phe Leu Met Leu Val Pro Leu Leu Leu Ala Phe Gly Met Val Pro Val						
	610		615		620	
tat gtg ggc ccc ccc acg gtc ttc tcc tgt ttc tgc cgc cag gct ttc	1920					
Tyr Val Gly Pro Pro Thr Val Phe Ser Cys Phe Cys Arg Gln Ala Phe						
	625		630		635	
ttc acc gtt tgc ttc tcc gtc tgc ctc tcc tgc atc acg gtg cgc tcc	1968					
Phe Thr Val Cys Phe Ser Val Cys Leu Ser Cys Ile Thr Val Arg Ser						
	645		650		655	
ttc cag att gtg tgc gtc ttc aag atg gcc aga cgc ctg cca agc gcc	2016					
Phe Gln Ile Val Cys Val Phe Lys Met Ala Arg Arg Leu Pro Ser Ala						
	660		665		670	
tac ggt ttc tgg atg cgt tac cac ggg ccc tac gtc ttc gtg gcc ttc	2064					
Tyr Gly Phe Trp Met Arg Tyr His Gly Pro Tyr Val Phe Val Ala Phe						
	675		680		685	
atc acg gcc gtc aag gtg gcc ctg gtg gcg ggc aac atg ctg gcc acc	2112					
Ile Thr Ala Val Lys Val Ala Leu Val Ala Gly Asn Met Leu Ala Thr						
	690		695		700	
acc atc aac ccc att ggc cgg acc gac ccc gat gac ccc aat atc ata	2160					
Thr Ile Asn Pro Ile Gly Arg Thr Asp Pro Asp Asp Pro Asn Ile Ile						
	705		710		715	
atc ctc tcc tgc cac cct aac tac cgc aac ggg cta ctc ttc aac acc	2208					

Ile Leu Ser Cys His Pro Asn Tyr Arg Asn Gly Leu Leu Phe Asn Thr
 725 730 735
 agc atg gac ttg ctg ctg tcc gtg ctg ggt ttc agc ttc gcg tac gtg 2256
 Ser Met Asp Leu Leu Leu Ser Val Leu Gly Phe Ser Phe Ala Tyr Val
 740 745 750
 ggc aag gaa ctg ccc acc aac tac aac gaa gcc aag ttc atc acc ctc 2304
 Gly Lys Glu Leu Pro Thr Asn Tyr Asn Glu Ala Lys Phe Ile Thr Leu
 755 760 765
 agc atg acc ttc tcc ttc acc tcc tcc atc tcc ctc tgc acg ttc atg 2352
 Ser Met Thr Phe Ser Phe Thr Ser Ser Ile Ser Leu Cys Thr Phe Met
 770 775 780
 tct gtc cac gat ggc gtg ctg gtc acc atc atg gat ctc ctg gtc act 2400
 Ser Val His Asp Gly Val Leu Val Thr Ile Met Asp Leu Leu Val Thr
 785 790 795 800
 gtg ctc aac ttt ctg gcc atc ggc ttg ggg tac ttt ggc ccc aaa tgt 2448
 Val Leu Asn Phe Leu Ala Ile Gly Leu Gly Tyr Phe Gly Pro Lys Cys
 805 810 815
 tac atg atc ctt ttc tac ccg gag cgc aac act tca gct tat ttc aat 2496
 Tyr Met Ile Leu Phe Tyr Pro Glu Arg Asn Thr Ser Ala Tyr Phe Asn
 820 825 830
 agc atg att cag ggc tac acg atg agg aag agc tag
 Ser Met Ile Gln Gly Tyr Thr Met Arg Lys Ser
 835 840

<210> 18
 <211> 2577
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 18
 atg cca gct ttg gct atc atg ggt ctc agc ctg gct gct ttc ctg gag 48
 Met Pro Ala Leu Ala Ile Met Gly Leu Ser Leu Ala Ala Phe Leu Glu
 1 5 10 15
 ctt ggg atg ggg gcc tct ttg tgt ctg tca cag caa ttc aag gca caa 96
 Leu Gly Met Gly Ala Ser Leu Cys Leu Ser Gln Gln Phe Lys Ala Gln
 20 25 30
 ggg gac tac ata ctg ggc ggg cta ttt ccc ctg ggc tca acc gag gag 144
 Gly Asp Tyr Ile Leu Gly Gly Leu Phe Pro Leu Gly Ser Thr Glu Glu
 35 40 45
 gcc act ctc aac cag aga aca caa ccc aac agc atc ccg tgc aac agg 192
 Ala Thr Leu Asn Gln Arg Thr Gln Pro Asn Ser Ile Pro Cys Asn Arg
 50 55 60
 ttc tca ccc ctt ggt ttg ttc ctg gcc atg gct atg aag atg gct gtg 240
 Phe Ser Pro Leu Gly Leu Phe Leu Ala Met Ala Met Lys Met Ala Val

65	70	75	80	
gag gag atc aac aat gga tct gcc ttg ctg cct ggg ctg cgg ctg ggc	288			
Glu Glu Ile Asn Asn Gly Ser Ala Leu Leu Pro Gly Leu Arg Leu Gly				
85	90	95		
tat gac cta ttt gac aca tgc tcc gag cca gtg gtc acc atg aaa tcc	336			
Tyr Asp Leu Phe Asp Thr Cys Ser Glu Pro Val Val Thr Met Lys Ser				
100	105	110		
agt ctg atg ttc ctg gcc aag gtg ggc agt caa agc att gct gcc tac	384			
Ser Leu Met Phe Leu Ala Lys Val Gly Ser Gln Ser Ile Ala Ala Tyr				
115	120	125		
tgc aac tac aca cag tac caa ccc cgt gtg ctg gct gtc atc ggc ccc	432			
Cys Asn Tyr Thr Gln Tyr Gln Pro Arg Val Leu Ala Val Ile Gly Pro				
130	135	140		
cac tca tca gag ctt gcc ctg att aca ggc aag ttc ttc agc ttc ttc	480			
His Ser Ser Glu Leu Ala Leu Ile Thr Gly Lys Phe Phe Ser Phe Phe				
145	150	155	160	
ctc atg cca cag gtc agc tat agt gcc agc atg gat cgg cta agt gac	528			
Leu Met Pro Gln Val Ser Tyr Ser Ala Ser Met Asp Arg Leu Ser Asp				
165	170	175		
cgg gaa acg ttt cca tcc ttc ttc cgc aca gtg ccc agt gac cgg gtg	576			
Arg Glu Thr Phe Pro Ser Phe Phe Arg Thr Val Pro Ser Asp Arg Val				
180	185	190		
cag ctg cag gca gtt gtg act ctg ttg cag aac ttc agc tgg aac tgg	624			
Gln Leu Gln Ala Val Val Thr Leu Leu Gln Asn Phe Ser Trp Asn Trp				
195	200	205		
gtg gcc gcc tta ggg agt gat gat gac tat ggc cgg gaa ggt ctg agc	672			
Val Ala Ala Leu Gly Ser Asp Asp Asp Tyr Gly Arg Glu Gly Leu Ser				
210	215	220		
atc ttt tct agt ctg gcc aat gca cga ggt atc tgc atc gca cat gag	720			
Ile Phe Ser Ser Leu Ala Asn Ala Arg Gly Ile Cys Ile Ala His Glu				
225	230	235	240	
ggc ctg gtg cca caa cat gac act agt ggc caa cag ttg ggc aag gtg	768			
Gly Leu Val Pro Gln His Asp Thr Ser Gly Gln Gln Leu Gly Lys Val				
245	250	255		
ctg gat gta cta cgc caa gtg aac caa agt aaa gta caa gtg gtg gtg	816			
Leu Asp Val Leu Arg Gln Val Asn Gln Ser Lys Val Gln Val Val Val				
260	265	270		
ctg ttt gcc tct gcc cgt gct gtc tac tcc ctt ttt agt tac agc atc	864			
Leu Phe Ala Ser Ala Arg Ala Val Tyr Ser Leu Phe Ser Tyr Ser Ile				
275	280	285		
cat cat ggc ctg tca ccc aag gla tgg gtg gcc agt gag tct tgg ctg	912			
His His Gly Leu Ser Pro Lys Val Trp Val Ala Ser Glu Ser Trp Leu				
290	295	300		
aca tct gac ctg gtc atg aca ctt ccc aat att gcc cgt gtg ggc act	960			

Thr Ser Asp Leu Val Met Thr Leu Pro Asn Ile Ala Arg Val Gly Thr
 305 310 315 320
 gtg ctt ggg ttt ttg cag cgg ggt gcc cta ctg cct gaa ttt tcc cat 1008
 Val Leu Gly Phe Leu Gln Arg Gly Ala Leu Leu Pro Glu Phe Ser His
 325 330 335
 tat gtg gag act cac ctt gcc ctg gcc gct gac cca gca ttc tgt gcc 1056
 Tyr Val Glu Thr His Leu Ala Leu Ala Asp Pro Ala Phe Cys Ala
 340 345 350
 tca ctg aat gcg gag ttg gat ctg gag gaa cat gtg atg ggg caa cgc 1104
 Ser Leu Asn Ala Glu Leu Asp Leu Glu Glu His Val Met Gly Gln Arg
 355 360 365
 tgt cca cgg tgt gac gac atc atg ctg cag aac cta tca tct ggg ctg 1152
 Cys Pro Arg Cys Asp Asp Ile Met Leu Gln Asn Leu Ser Ser Gly Leu
 370 375 380
 ttg cag aac cta tca gct ggg caa ttg cac cac caa ata ttt gca acc 1200
 Leu Gln Asn Leu Ser Ala Gly Gln Leu His His Gln Ile Phe Ala Thr
 385 390 395 400
 tat gca gct gtg tac agt gtg gct caa gcc ctt cac aac acc cta cag 1248
 Tyr Ala Ala Val Tyr Ser Val Ala Gln Ala Leu His Asn Thr Leu Gln
 405 410 415
 tgc aat gtc tca cat tgc cac gta tca gaa cat gtt cta ccc tgg cag 1296
 Cys Asn Val Ser His Cys His Val Ser Glu His Val Leu Pro Trp Gln
 420 425 430
 ctc ctg gag aac atg tac aat atg agt ttc cat gct cga gac ttg aca 1344
 Leu Leu Glu Asn Met Tyr Asn Met Ser Phe His Ala Arg Asp Leu Thr
 435 440 445
 cta cag ttt gat gct gaa ggg aat gta gac atg gaa tat gac ctg aag 1392
 Leu Gln Phe Asp Ala Glu Gly Asn Val Asp Met Glu Tyr Asp Leu Lys
 450 455 460
 atg tgg gtg tgg cag agc cct aca cct gta tta cat act gtg ggc acc 1440
 Met Trp Val Trp Gln Ser Pro Thr Pro Val Leu His Thr Val Gly Thr
 465 470 475 480
 ttc aac ggc acc ctt cag ctg cag cag tct aaa atg tac tgg cca ggc 1488
 Phe Asn Gly Thr Leu Gln Leu Gln Gln Ser Lys Met Tyr Trp Pro Gly
 485 490 495
 aac cag gtg cca gtc tcc cag tgt tcc cgc cag tgc aaa gat ggc cag 1536
 Asn Gln Val Pro Val Ser Gln Cys Ser Arg Gln Cys Lys Asp Gly Gln
 500 505 510
 gtt cgc cga gta aag ggc ttt cat tcc tgc tgc tat gac tgc gtg gac 1584
 Val Arg Arg Val Lys Gly Phe His Ser Cys Cys Tyr Asp Cys Val Asp
 515 520 525
 tgc aag gcg ggc agc tac cgg aag cat cca gat gac ttc acc tgt act 1632
 Cys Lys Ala Gly Ser Tyr Arg Lys His Pro Asp Asp Phe Thr Cys Thr
 530 535 540

cca tgt aac cag gac cag tgg tcc cca gag aaa agc aca gcc tgc tta 1680
 Pro Cys Asn Gln Asp Gln Trp Ser Pro Glu Lys Ser Thr Ala Cys Leu
 545 550 555 560
 cct cgc agg ccc aag ttt ctg gct tgg ggg gag cca gtt gtg ctg tca 1728
 Pro Arg Arg Pro Lys Phe Leu Ala Trp Gly Glu Pro Val Val Leu Ser
 565 570 575
 ctc ctc ctg ctg ctt tgc ctg gtg ctg ggt cta gca ctg gct gct ctg 1776
 Leu Leu Leu Leu Leu Cys Leu Val Leu Gly Leu Ala Leu Ala Ala Leu
 580 585 590
 ggg ctc tct gtc cac cac tgg gac agc cct ctt gtc cag gcc tca ggt 1824
 Gly Leu Ser Val His His Trp Asp Ser Pro Leu Val Gln Ala Ser Gly
 595 600 605
 ggc tca cag ttc tgc ttt ggc ctg atc tgc cta ggc ctc ttc tgc ctc 1872
 Gly Ser Gln Phe Cys Phe Gly Leu Ile Cys Leu Gly Leu Phe Cys Leu
 610 615 620
 agt gtc ctt ctg ttc cca ggg cgg cca agc tct gcc agc tgc ctt gca 1920
 Ser Val Leu Leu Phe Pro Gly Arg Pro Ser Ser Ala Ser Cys Leu Ala
 625 630 635 640
 caa caa cca atg gct cac ctc cct ctc aca ggc tgc ctg agc aca ctc 1968
 Gln Gln Pro Met Ala His Leu Pro Leu Thr Gly Cys Leu Ser Thr Leu
 645 650 655
 ttc ctg caa gca gct gag acc ttt gtg gag tct gag ctg cca ctg agc 2016
 Phe Leu Gln Ala Ala Glu Thr Phe Val Glu Ser Glu Leu Pro Leu Ser
 660 665 670
 tgg gca aac tgg cta tgc agc tac ctt cgg gga ctc tgg gcc tgg cta 2064
 Trp Ala Asn Trp Leu Cys Ser Tyr Leu Arg Gly Leu Trp Ala Trp Leu
 675 680 685
 gtg gta ctg ttg gcc act ttt gtt gag gca gca cta tgt gcc tgg tat 2112
 Val Val Leu Leu Ala Thr Phe Val Glu Ala Ala Leu Cys Ala Trp Tyr
 690 695 700
 ttg aac gct ttc cca cca gag gtg gtg aca gac tgg tca gtg ctg ccc 2160
 Leu Asn Ala Phe Pro Pro Glu Val Val Thr Asp Trp Ser Val Leu Pro
 705 710 715 720
 aca gag gta ctg gag cac tgc cac gtg cgt tcc tgg gtc agc ctg ggc 2208
 Thr Glu Val Leu Glu His Cys His Val Arg Ser Trp Val Ser Leu Gly
 725 730 735
 ttg gtg cac atc acc aat gca atg tta gct ttc ctc tgc ttt ctg ggc 2256
 Leu Val His Ile Thr Asn Ala Met Leu Ala Phe Leu Cys Phe Leu Gly
 740 745 750
 act ttc ctg gta cag agc cag cct ggc cgc tac aac cgt gcc cgt ggt 2304
 Thr Phe Leu Val Gln Ser Gln Pro Gly Arg Tyr Asn Arg Ala Arg Gly
 755 760 765
 ctc acc ttc gcc atg cta gct tat ttc atc acc tgg gtc tct ttt gtg 2352
 Leu Thr Phe Ala Met Leu Ala Tyr Phe Ile Thr Trp Val Ser Phe Val

770	775	780	
ccc ctc ctg gcc aat gtg cag gtg gcc tac cag cca gct gtg cag atg	2400		
Pro Leu Leu Ala Asn Val Gln Val Ala Tyr Gln Pro Ala Val Gln Met			
785	790	795	800
ggt gct atc cta gtc tgt gcc ctg ggc atc ctg gtc acc ttc cac ctg	2448		
Gly Ala Ile Leu Val Cys Ala Leu Gly Ile Leu Val Thr Phe His Leu			
805	810	815	
ccc aag tgc tat gtg ctt ctt tgg ctg cca aag ctc aac acc cag gag	2496		
Pro Lys Cys Tyr Val Leu Leu Trp Leu Pro Lys Leu Asn Thr Gln Glu			
820	825	830	
ttc ttc ctg gga agg aat gcc aag aaa gca gca gat gag aac agt ggc	2544		
Phe Phe Leu Gly Arg Asn Ala Lys Lys Ala Ala Asp Glu Asn Ser Gly			
835	840	845	
ggt ggt gag gca gct cag gga cac aat gaa tga			
Gly Gly Glu Ala Ala Gln Gly His Asn Glu			
850	855		

<210> 19
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<400> 19
 ggaattcaig cttttctggg cagctcacc

<210> 20
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<400> 20
 gcattacgat gcggccgctc aggtagtgcc gcagcgcc

<210> 21
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<400> 21
 ggaattcaig ggaccccagg cgaggac

<210> 22
 <211> 40
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 22

gcattacgat gcggccgcct agctcttcct catcgtgtag

<210> 23

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 23

ggaattcatg ccagctttgg ctaiccatgg

<210> 24

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 24

gcattacgat gcggccgctc attcattgtg ttccctgagct g